

ÜTÜ XXVI KONVERENTSI MATERJALE

MIKROBIOLOOGIA- JA BIOKEEMIA- ALASED ETTEKANDED

Tartu Riiklik Ülikool
Bioloogia-Geograafiateaduskond
Taimefüsioloogia ja -biokeemia kateeder

ÜTÜ XXVI KONVERENTSI MATERJALE

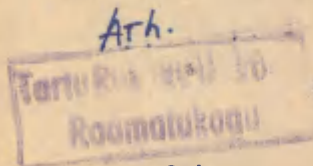
MIKROBIOLOOGIA- JA BIOKEEMIA-
ALASED ETTEKANDED

Tartu, aprill 1971

Käesolevas kogumikus väljaantud üliõpilaste teadusliku konverentsi ettekanded püüavad anda lühikese ülevaate mikrobioloogia, biokeemia ja taimefüsioloogia erialadele spetsialiseeruvate üliõpilaste teaduslikust uurimistööst paaril viimasel aastal. Nimetatud erialade üliõpilased saavad kitsama erialase ettevalmistuse TRÜ taimefüsioloogia kateedris, kus teostavad praktilist teadusliku uurimistööd. Erandi moodustavad loomabiokeemiat uurivad üliõpilased, kes teevad kursuse- ja diplomitööd Arstiteaduskonna biokeemia kateedris.

Taimefüsioloogia ja -biokeemia kateedris on üliõpilased reeglina lülitunud kateedri teaduslikku töösse ja koos kateedri kollektiiviga võtavad osa püstitatud teaduslike probleemide lahendamist. Seetõttu on saanud seaduspäraseks üliõpilaste esinemine artiklite kaasautoritena uurimistöö tulemuste avaldamisel. Sellisel juhul artiklite vormistamise pearaskus on aga jäänud õppejõududele.

Käesoleva tööga on üliõpilastele antud võimalus uurimistöö tulemuste iseseisvaks vormistamiseks. Loodame, et konverentsi ettekannete tekstide eelnev avaldamine ei anna mitte üksnes üliõpilastele kogemusi artiklite vormistamisel, vaid tõstab ka konverentsil peetavate ettekannete kvaliteeti, parandab ÜTÜ autoriteeti ja tõhustab ettevalmistamist järgmisteks ÜTÜ konverentsideks.



KUSTUTATUD

J. Simisker
ÜTÜ taimefüsioloogia
ringi juhendaja

1881

MÕNEDE BIOOTILISTE FAKTORITE
OSATÄHTSUSEST VEGETATSIOONIKATSETE LÄMMASTIKUBILANSIS

L. P l a d o
V kursuse üliõpilane
(Juhendaja dots. V. T o h v e r)

Maa atmosfäärist 79 protsenti moodustab lämmastik. Selle suure koguse tõttu on esimesel pilgul raskesti mõistetav, et biosfääri kui terviku produktiivsuse esmaseks limiteerijaks võib sageli olla lämmastik. Selle puudujääk tekib just inimtegevusest mõjustatud kultuurmaastikes. Samal ajal nn. metsikus looduses, kus arenevad loomulikult kujunenud elukooslused, valitseb ka lämmastiku ringes tasakaal (V. Tohver, 1970). Inimene, kasvatades põldudel ainult teatud kultuure, rikub seda tasakaalu, viies saagiga välja suuremaid lämmastikukoguseid kui on seda mulda lämmastikväetiste näol sisse viidud. Peale selle esineb mullas teisigi lämmastikukadusid. Üheks nendest on kaod denitrifikatsioonil. V. Tohver (samas) andmetel on Eesti NSV põllumuldades lämmastikukaod denitrifikatsioonil 10...90 protsenti väetistega sisse viidud lämmastikust. Looduses saabub lämmastiku suhtes uus tasakaal, kuid inimestele on see sageli mittesoovitava iseloomuga. Seetõttu on väga suur tähtsus uue, sealjuures nii tootmise kui ka mulla säilitamise huvides optimaalse tasakaalu tekkel toimivate faktorite osatähtsuse mõistmisel. Lämmastikubilansi mõttes on eriti oluline inimtegevusest mõjustatud aladel (eeskätt põldudel) soodsalt juhtida mikrobioloogilist tegevust ja mõista taimekasvu tähtsust agrokeemiliste protsesside formeerumisel.

Lähtudes ülalesitatud faktidest, uurisime aastatel

1969-70 vegetatsioonikatsetes mulla aereerimise ja taimekasvu osatähtsust mikrobioloogilise aktiivsuse kujunemisel ning koos sellega mõnede lämmastikuvormide dünaamika ning bilansis (üldlämmastik, nitraat- ja nitritlämmastik, ammooniumlämmastik).

Metoodika

Katsed korraldati väli- ja laboratoorsetes tingimustes.

a) Katsed välitingimustes,

Välikatsed rajati 1968.a. suvel TRÜ botaanikaaias P.Rahno (1968) järgi rajatud biomeetrites. Meie biomeetrite (ilma põhjata, pinnasesse ehitatud betoonkastide) pindala oli $1,6 \times 1,6 = 2,56 \text{ m}^2$, üldine sügavus 90 cm. Põhja viidi isoleerivat paekivikillustikku 20 cm paksuselt. Kastid täideti 50 cm paksuselt läbi 0,8 cm sõela tulnud ühtlase segatud muldaga (kamar-karbonaatne muld Vinni näidissovhoos-teenikumi maadelt Rakvere rajoonist, mullas huumust ca 4 protsenti, pH 7,2). 1969.a. alustati variantide loomist - kolmes biomeetris tihendati mulda tampimisega kord nädalas, ülejäänud kolmes seevastu kobestati mulda ülepäeviti 20 cm sügavuselt kuni sügiskülmade saabumiseni. Käesolevas töös esitame 1970.a. korraldatud katsetulemused, milles kaks biomeetrit hoiti taimestikuvabana, kaks biomeetrit külvati horedalt (100 seemet/m^2) odraga "Nossovski-2" ja kaks biomeetrit sama odraga täisnormis (500 seemet/m^2). Igas paaris oli üks biomeeter tihendatud, teine kobestatud mullaga.

b) Katsed laboratooriumitingimustes.

Laboratoorne vegetatsioonikatse korraldati 1970.a. augusti lõpust oktoobri lõpuni TRÜ õppe-eksperimentaaltöökojas valmistatud eriseadmes, milles katseanumateks olid valgevasest, koonilise põhjaga 1500 cm^3 mahtuvusega anumad, mis

täideti 1300 cm³ ulatuses TRÜ botaanikaaiia kasvuhoonest saadud liivarikka kerge lehemullaga. Augusti lõpul külvati 4. anumasse salatit "Kivipea", 50 seemet anumasse. 4 anumad jäid taimedeta.

Katsetes määrati roisubakterite (lihapeptonagaril), lämmastikprototroofide (tärglisammooniumagaril), denitrifitseerijate (Hiltay söötmel) ja nitrifitseerijate (Vinogradski söötmel) tiiter 1 g mulla kuivmassis. Välikatsetes tehti vegetatsiooni kestel 5 korda analüüse (14.maist kuni 11.augustini), laboratooriumis - 3 korda (14.septembrist kuni 28.oktoobrini). Kaks esimest rühma analüüsiti Petri tassides tardsöötmel, ülejäänud kaks - vedelsöötmel piirlahjendusmeetodil kolme paralleeliga ("Методы...", 1966).

Koos mikrobioloogiliste analüüsidega määrati muldades üldlämmastik (Kjeldahli järgi), nitraatlämmastik (kolorimeetriselt fenoolsulfoonhappega), nitritlämmastik (kolorimeetriselt Griessi reaktiividega) ja ammooniumlämmastik (kolorimeetriselt Nessleri reaktiiviga).

Välikatsete lõpul koguti taimede maapealsed ja maaalused osad eraldi ning määrati nende mass ja lämmastikusisaldus.

Mullaproovid võeti pindmisest 20 cm paksusest kihist mullapuuriga.

Katsetulemused

1970.a. vegetatsiooniperioodi tulemuste alusel mikrobioloogiline aktiivsus sõltus eeskätt taimede olemasolust või nende puudumisest, kusjuures taimikasvu tihedus oli väiksema tähtsusega varieeruvusallikas (tabel 1). Enne taimede külvi toimunud mulla aereerimine või tihendamine tõi kaasa küllalt märgatavaid mikrobioloogilise aktiivsuse eri-

nevuai vegetatsiooniperioodil. Võrreldes välitingimustes odra all olevaid biomeetreid, kus ühtedes toimus aereerimine ja teistes tihendamine ainult enne taimekülvi, nähtub, et aereeritud mullas on mikrobioloogiline aktiivsus suurem, v.a. nitrifitseerijad. Tabelis 1 toodud andmetest selgub ühtlasi, et taimedeta variantides toimib sage mulla aereerimine kogu vegetatsiooniperioodi jooksul mõnevõrra pärssivalt enamiku mikroobide arengusse, välja arvatud nitrifitseerijad. Järelikult soodustab vegetatsiooniperioodi eelne mulla aereerimine mikrobioloogilist aktiivsust mullas, mitte aga ülemäärane kobestamine, mis lõhub mulla struktuuri ja tõstab liigselt oksüdatsioonitaset.

Nii laboratoorsete kui ka välikatsete tulemused näitavad denitrifitseerijate bakterite seotust taimekasvuga.

Tabel 1

Mikrobioloogilise aktiivsuse summaarsed
andmed vegetatsiooni (1970.a.) kestel, n $10^6/1$ g
(5 analüüsi põhjal)

Katse- tingi- mused	Mulla aere- rimine	Taimed	Denitri- fitsee- rijad (n)	Nitri- fit- seeri- jad (n)	Roisubak- terid (n)	Lämmas- tikpro- totroo- fid (n)
Labora- toorsed	-	-	9	0,16	39	31
		Leht- salat	13	0,08	34	25
		-	7	0,20	61	47
Väli- tingi- mused	-	Oder	2(?)	0,21	54	39
	+	-	3	0,23	44	41
		Oder	13	0,20	66	52

Vegetatsioonil kestel muutub mineraalse ja üldlammastiku sisaldus mullas. Nii laboratoorsetes kui ka välikatsetes täheldati nitraatlammastiku sisalduse tugevat vähenemist vegetatsiooniperioodi kestel (tabel 2). Seejuures vähenes taimedega variantides nitraatlammastiku sisaldus tugevamini kui taimedeta variantides. Ammoonium- ja üldlammastiku sisaldusandmed võrreldes taimedega ja taimedeta variante omavahel, on kõrgemad taimedeta variantides. See ei tähenda siiski lammastikukadusid. Nagu selgub, on küsimus taimede neelavas tegevuses, mis selgesti ilmneb aktiivsel kasvuperioodil juunis ja juulis. Augustis üld- ja ammooniumlammastiku sisaldused ühtlustuvad taimedega ja taimedeta variantides. Taimedeta variantides on see madalam, taimedega variantides kõrgem kui eelneval perioodil. Järelikult võib rääkida tõelistest lammastikukadudest just taimedeta variantides. Otsustades tabelis 2 esitatud sisaldusandmete järgi, on need üsna suured. Mulla aereerimine või tihendamine ei toonud esile ühesuunalisi lammastikuvormide sisalduste muutusi. Vaadeldaval ajavahemikul määrati ka nitritlammastiku sisaldused. Üldise tendentsina ilmnes, et suvekuudel on mullas seda lammastikuvormi tunduvalt enam (kuni 0,299 mg/100 g mullas) kui hilissügisel ja varakevadel, kus ta sisaldus langes mittemääratavate jälgedeni.

Välikatsetes koristati oder kõikides biomeetrites 13. augustil. Eraldati odra maapealsed osad ja juured, kaaluti need ja määrati üldlammastik. Kevadel enne külvi mulda tihendatud biomeetrist saadi kuiva taimemassi kokku 0,85 kg, millega koos viidi biomeetrist välja ka 5,11 g üldlammastikku. Kevadel kobestatud variandist saadi kuiva taimemassi 0,79 kg ja väljaviidud üldlammastikku oli 4,71 g. Saagikust võisid mõjutada ja pisut erinevad niiskusesisaldused, mis tekkisid mulla aereerimise ja tihendamise tõttu.

Tabel 2

Mineraalse ja üldlämmastiku
dünaamika 1970.a. vegetatsioonil kestel
(sisaldusandmed mg N/100 g)

Katse-Mulla tingi-aerees- mused rimine	Taimed	Määra- tav lämmas- tiku- vorm	Analüüsid				
			I	II	III	IV	V
				14.09		13.10	28.10
Laboratoor- sed	-	$\text{NO}_3^- \text{-N}$		60,5		62,6	38,8
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$		3,02		5,59	5,55
		Üld-N		240		193	136
	Leht-*) salat	$\text{NO}_3^- \text{-N}$		47,4		42,6	19,2
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$		2,57		7,52	3,11
		Üld-N		257		221	185
			14.05	04.06	16.06	08.07	11.08
	-	$\text{NO}_3^- \text{-N}$	3,54	6,18	3,02	2,55	1,73
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	1,67	1,77	6,04	3,09	2,41
		Üld-N	94	316	321	309	241
Välitingimused	Oder**)	$\text{NO}_3^- \text{-N}$	3,43	4,45	1,49	0,75	1,01
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	1,62	0,34	4,06	1,74	2,47
		Üld-N	83	227	240	249	278
	-	$\text{NO}_3^- \text{-N}$	6,70	2,37	1,64	3,06	1,60
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	0,47	3,21	5,60	8,19	0,25
		Üld-N	173	246	213	346	273
	Oder**)	$\text{NO}_3^- \text{-N}$	6,70	8,04	1,28	2,48	2,19
		$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	0,36	1,64	4,10	2,41	2,51
		Üld-N	75	150	252	218	268

*) Kylvati 19.08.70.

**) Kylvati 14.05.70.

Tabel 3

Lämmastikuvormide dünaamika sõltuvus katsevariandist
(dispersioonanalüüs)

Varieeruvusallikad: totaalne - T, taimekasv - tk., aereerimine - a, mikrobioloogiline aktiivsus - ma, jääk - j
Kriitilised F väärtused lävel $p = 0,05$

$$n_1' = 1, n_2' = 38 - 4,043$$

$$n_1' = 2, n_2' = 38 - 3,192$$

$$n_1' = 2, n_2' = 12 - 4,747$$

$$n_1' = 2, n_2' = 12 - 3,805$$

A. Varieeruv lämmastikuvorm - nitraatlämmastik

Varieeruvus- allikas		T	tk	a	ma	j
Mikro- bioloogi- line foon						
Summaarne	n'	53	2	1	2	48
	σ	x	6916	12	476	319
	F	x	21,68	0,004	1,49	x
Denitri- fitseerijad	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	2800	257	407	327
	F	x	8,57	0,79	1,24	x
Nitri- fitseerijad	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	1603	227	729	524
	F	x	3,06	0,46	1,39	x
Roisu- bakterid	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	2416	70	235	212
	F	x	11,4	0,33	1,11	x

B. Varieeruv lämmastikuvorm - ammonium-lämmastik

Varieeruvus- allikas Mikro- bioloogiline foon		T	tk	a	ma	j
Summaarne	n'	53	2	1	2	48
	σ	x	89	167	1624	390
	F	x	0,20	0,43	4,17	x
Denitri- fitseerijad	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	121	61	438	565
	F	x	0,21	0,09	0,78	x
Nitri- fitseerijad	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	23	460	111	262
	F	x	0,39	0,19	5,23	x

D. Varieeruv lämmastikuvorm - üldlämmastik

Varieeruvus- allikas Mikro- bioloogiline foon		T	tk	a	ma	j
Summaarne	n'	53	2	1	2	48
	σ	x	105	489	520	105
	F	x	1,00	4,67	4,96	x
Denitri- fitseerijad	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	147	672	26	146
	F	x	1,00	4,60	0,18	x
Nitri-	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	21	38	12	70
	F	x	0,30	0,54	0,17	x
Roisu- bakterid	n'	17	2	1	2	12
	σ	x	67	52	1151	23
	F	x	2,92	2,28	50,5	x

Välitingimustes saadud andmed töötati läbi multifaktoriaalse dispersioonanalüüsi meetodil (Bailey, 1959), viies variatsiooniallikatena analüüsi taimekasvu olemasolu ja intensiivsuse astme, mulla töötlemise (kobestus, tihendamine) ning mikrobioloogilise aktiivsuse andmed, kusjuures arvestati summaarset aktiivsust ja aktiivsust olulisimate rühmade järgi. Sellises statistilises analüüsis iseloomustati arvestatud faktorite osatähtsust erinevate lämmastikuvormide sisaldustasemes ja dünaamikas (faktorid vastandati analüüsitava lämmastiku vormi sisaldusega). Analüüsi tulemused on toodud tabelis 3.

Dispersioonanalüüs näitab, et nitraatlämmastiku dünaamika kujunemisel mullas on otsustava tähtsusega faktoriks taimekasv. Muud faktorid on selle foonil ebaolulise toimega. Ammooniumlämmastiku dünaamikat mõjutab ootuspäraselt kõige enam mikroobide arvukus, eriti roisubakterite oma. Üldlämmastik on tundlik nii mulla aereerimise kui ka mikrobioloogilise aktiivsuse suhtes.

Eespool toodud andmetest järeldub, et mullas toimuvaid keerukaid mikrobioloogilisi ja keemilisi protsesse mõjutab kõige enam taimede olemasolu või puudumine. Eriti paistab selle faktori osatähtsus silma lämmastikukadude formeerumisel.

K i r j a n d u s

N.T.J.Bailey, 1959. Statistical Methods in Biology.
London

P.Rahno, 1968. Eesti NSV TA Toimetised. Bioloogia.
17, 1, 29

Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. Изд.-во Моск. ун-та, М. 1966.

V.Tohver, 1970. XI Eesti loodusuurijate päeva ettekanded.
Tln., 84.

О РОЛИ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ В АЗОТНОМ БАЛАНСЕ
ПОЧВ ВЕГЕТАЦИОННЫХ ОПЫТОВ

Д. П ж а д о

Студент V курса

(Руководитель доц. В. Т о х в е р)

(Резюме)

Изучали динамику нитратного, аммиачного, нитритного и общего азота в вегетационных опытах, организованных в т.н. биометрах (Rahno, 1968), в зависимости от существования и интенсивности роста растительного покрова, от уплотнения или разрыхления почвы и от интенсивности развития отдельных физиологических групп микроорганизмов. Полученные данные обрабатывали статистически по многофакториальному дисперсионному анализу. В результате исследований выяснилось, что главным фактором избежания потерь азота является рост растений, который одновременно является главным фактором варьирования нитратного азота, внесенного в виде удобрения. Варьирования же динамики общего и аммиачного азота чувствительно реагирует, к тому же, и влиянию со стороны микробиологического фактора, который, в свою очередь, значительно зависит от роста растений.

ÕHUHAPNIKU MÕJUST *ACHROMOBACTER AGILE* NITRAADI
REDUKTAASSÜSTEEMILE

A. L a v i n g

IV kursuse üliõpilane

(Juhendaja dots. V. T o h v e r)

Denitrifitseerijate adaptiivsel ümberlülitumisel hingamiselt denitrifikatsioonile, mis leiab aset üleminekul aerobioosist anaerobioosi, ilmnevad elektronide transpordiahela ensüümkompositsiooni erinevused ahela terminaaalses osas, kus otsustatakse elektronide lõpliku ülemineku alternatiiv õhuhapnikule või nitraatidele (Downey jt., 1969). Seejuures eelistavad kõik seni uuritud denitrifitseerijate bakterite liigid energeetiliselt efektiivsemat hingamist denitrifikatsioonile (Downey jt., 1969).

Denitrifitseerijate bakterite elektronide transpordiahelas esineb nähtavasti kaks nitraadi reduктаassüsteemi (Pichinoty jt., 1968). Pichinoty järgi on need esialgu tinglikult tähistatud kui A- ja B-süsteemid, kusjuures A täidab dissimilatoorseid-energeetilisi, B-anaboolseid funktsioone. Süsteemidel on erinev positsioon elektronide transpordiahela suhtes ja erinev tundlikkus õhuhapnikule (Van'T Riet, 1968; Tohver, 1970). Õhuhapnik pärssib A-süsteemi biosünteesi ja aktiivsust (Chang jt., 1963) või siis ainult sünteesi.

O₂-e juuresolekul toimub seevastu sünteesiprotsesside (süsteem B) intensiivistumine (Tohver, 1958; 1970).

Arvestades kirjeldatud andmeid, pakkus huvi uurida mõne tüüpilise, ENSV muldades levinud denitrifitseerija nitraadi reduктаassüsteemi formeerumist ja käitumist sõltuvalt aeratsioonitasemest kultuuri ettekasvatusel ja mittekasvava sus-

pensiooni eksponeerimisel. Selliseks objektiks valiti energiline denitrifitseerija Achromobacter agile Bergey et al., 1923, mille puhaskultuur saadi 1967.a. Üleliidulisest Põllumajandusliku Mikrobioloogia Teadusliku Uurimise Instituudist. Käesolevas teadaandes esitatakse 1970.a. saadud tulemused, mis hõlmavad objektmikroobi erinevat eksponeerimist erineva ettekasvatuse foonil.

Metoodika

Objektorganismi kasvatamine rakumassi saamiseks toimus 1-1 seisukolbides (0,75 l Hiltay söödet broomtümoolsinisega) 28°C juures anaerobioosis (argooni atmosfääris), vabal kokkupuutel õhuga (nn. mikroaereeritud kultuurid) või steriilse õhu läbipuhumisega (0,8 l/min). Viimasel juhul oli kultuurivedelik kogu inkubatsiooniperioodi (72 tun- di) kestel hapnikuga küllastatud (5...7 mg O₂/l elektro- meetrilise määramise andmetel). Mikroaereeritud kultuure inkubeeriti 120 tundi. Anaerobne inkubatsioon, mis annab aeglasema kultuurikasvu, kestis 144 tundi.

Üleskasvanud kultuur tsentrifuugiti välja maksimaalse statsionaarse faasi saabumisel külmutustsentrifuugis $\pm 0^{\circ}$ ja 3800 g juures 15. min. jooksul. Edasiselt, kuni ekspositsioonini, säilitati kultuure 0...+2°C juures fosfaat- puhvris suspensioonidena, mille tiiter oli $2 \cdot 10^9$... $\dots 3 \cdot 10^9$. Ekspositsioon järgnes 15 minutit pärast raku- massi väljatsentrifuugimist 28°C juures 100-ml Erlenmeyeri kolbides 50 ml Hiltay söötmes ilma broomtümoolsiniseta. Nitraadi reduktaasi aktiivsuse säilitamiseks (Micrococcus denitrificans'i nitraadi reduktaassüsteem A sisaldab vahe- mikus NADH \rightarrow cyt b⁺⁺⁺ 2 - SH rühma, Katsuyuki jt., 1968) sööde sisaldas Nicholase ja Nasoni (1954) järgi redutsee- ritud glutatiooni lõppkontsentratsioon 10⁻³M. Eksposit-

sioonivariandid erinesid õhustustingimustelt kardinaalselt (anaerobioos argooni atmosfääris versus aktiivne aerimine).

Ekspositsioonikolbidesse viidi bakterisuspensiooni lõpptiitriini $1 \cdot 10^8 \dots 3 \cdot 10^8$, mis vastas keskmiselt 0,5 mg valgule milliliitris. Ekspositsioon kestis 30 minutit, järelkontrolliks veel 10 minutit. Esimese 10 min. jooksul nitritite kontsentratsiooni tõus reeglina sõltus ajast lineaarselt. Rakkude märgatavat paljunemist ei toimunud (mikroskoopiline kontroll ei registreerinud märgatavaid vahesid ekspositsiooni algul ja lõpul) mida takistas veel KCN-i manulus.

Et protsessi jälgimine toimus nitraatide reduktsioonil tekkivate nitritite kontsentratsiooni registreerimise teel (määramisel iga 10 minuti järel kolorimeetriliselt Griessi reaktiividega 2 ml proovis), oli oluline inhibeerida nitriti reduktaas. Seda tehti Nasoni ja Evansi (1955) järgi ekspositsioonikeskkonda KCN viimisega lõppkontsentratsioonis 10^{-3} M.

Reduktaassüsteemide A ja B eristamiseks kasutati paralleelselt ülalkirjeldatud ekspositsioonitingimustega ekspositsiooni uretaani manulusel (10^{-3} M). Uretaan katkestab elektronide transpordiahela tsütokroomisüsteemi algülis, pärssides $\text{cyt } c^{+++}$ redutseerimist ubikinooni või $\text{cyt } b^{+}_L$ (Dickson, Webb, 1966), millega võimaldab välja lülitada elektronide transpordiahela terminaales osa, seega ka tsütokroomiseoselise nitraadi reduktaasi ning iseloomustada flavoproteiidse reduktaassüsteemi tegevust. Uretaan manulusel osutus sobivaks vähendada KCN kontsentratsiooni kahekordselt ($5 \cdot 10^{-4}$ M).

Kõik tulemused avaldati nitritlähmaetikuna ($\text{NO}_2^- - \text{N}$) mikrogrammides milligrammi üldvalgu kohta minutis. Valk määrati bakterirakkude hüdrolüüsimisega Lowry järgi (Lowry jt., 1951).

Katsetulemused ja arutelu

Katsetulemused on esitatud joonisel ning tabelites 1 ja 2.

Võrreldes tulemusi, mis on saadud ekspositsioonirežiimis rakkude erineva ettekasvatuse foonil, ilmneb, et NO_2^- -N kogunemise määr ekspositsioonikultuurides kasvab koos ettekasvatuse aereerituse tõusuga, kuigi kogunenud nitritite absoluutne hulk sõltub seejuures eeskätt ekspositsioonirežiimist (anaeroobsel ekspositsioonil on see tase kõrgem, kusjuures ettekasvatuse efekt on siiski samasuunaline kummagi ekspositsioonirežiimi puhul). Tabelis 1 toodud arvutustulemused näitavad, et see on seotud rakkude nitraadireduktaasse aktiivsuse järsu tõusuga ettekasvatuse üleminekul anaerobioosist aerobioosi (efekt ilmneb selgesti juba mikroaereerituse korral). Lahtiseks jääb sellel foonil aga küsimus, kas leitud efekt põhineb nitraadi reduktaassüsteemide intensiivsemal biosünteesil või molekulaarse aktiivsuse tõusul. Märkimist väärib fakt, et ettekasvatuse režiimi efekt ilmneb eriti tugevalt anaeroobsel ekspositsioonil. Aeroobse ettekasvatuse positiivne efekt näib viitavat intensiivsemalt kulgenud sünteesiprotsessidele.

Kui teisest küljest võrrelda erinevate ekspositsioonirežiimide mõju nitritite kogunemismääradele ühe ja sama ettekasvatuse foonil, ilmneb, et anaeroobne ekspositsioon ületab selles suhtes aeroobse ekspositsiooni tunduvalt. Seda näitavad joonisel 1 esitatud NO_2^- -N dünaamikaandmed samuti aktiivsuseandmed (tabel 1). Siit võib järeldada, et nitraadi reduktaassüsteemide aktiivsuse indutseerimisel on aeratsioonil oluline koht (õhuhapnik toimib negatiivse indukto-
rina).

Kõrvutades eespool interpreteeritud tulemusi omavahel, võib järeldada, et denitrifikatsiooni summaarne tulemus sõltub mitte ainult valgu potentsiaalsest aktiivsusest ja hulgast, vaid ka konkreetse töömomendi tingimustest, mis määravad olemasoleva valgu aktiivsustaseme.

Variandid, milles elektronide transpordiahela katkestajana kasutati uretaani, võimaldavad täiendavalt iseloomustada Achr. agile nitraadi reduktaassüsteeme.

Eeldades, et õhuhapnik ja uretaan välistavad tsütokroomiseoselise nitraadi reduktaasi tegevuse, on katsetulemuste alusel võimalik arvutada selle süsteemi eri juhtudele vastav üldine osatähtsus. Selleks lahutati anaerobioosis saadud tulemustest aerobioosis saadud tulemused (eraldi uretaaniga ja uretaanita variantides) ja jääk avaldati protsentides õhuhapnikuga blokeerimata variandi tulemustest. Leitud osatähtsusi iseloomustavad tabelis 2 toodud andmed.

Oodatavast kõrgemat aktiivsust anaeroobselt ette kasvatatud rakkude anaeroobsel eksponeerimisel uretaani manulusel saab põhjendada ainult sünteesimehanismide või mittetäieliku blokeeringuga, sest mõlemas ekspositsioonivariandis peaks funktsioneerima ainult flavoproteiidne süsteem. Ilmselt uretaan ei elimineeri kuigi vähendab (vt. tabel 2) tsütokroomiseoselise süsteemi osavõttu NO_3^- redutseerimisest. Sama kehtib O_2 kohta.

Kooskõlas kirjanduse andmetega on tsütokroomiseoselise süsteemi osatähtsus aeroobses ettekasvatuses tunduvalt suurem kui anaeroobselt kasvatatud rakkudes.

Nitriti reduktaasi blokeerimine KCN-ga ei saa olla absoluutne, ning seepärast juhul kui anaeroobses ettekasvatuses on nitriti reduktaasi rohkem, või on see aktiivsem, võib suurem hulk nitriteid (kui variandis KCN-inhibitsiooniga aeroobses ettekasvatuses) edasi redutseeruda.

Võib tööhüpoteesina postuleerida, et Achr. agile nitraadi reduktaassüsteemides kuulub domineeriv koht tsütokroomiseoselisele osale ja et sõltuvalt konkreetsetest töötingimustest on võimalik tsütokroomse hingamissüsteemi modulatsioon nitraadi reduktaassüsteemiks.

Tabel 1

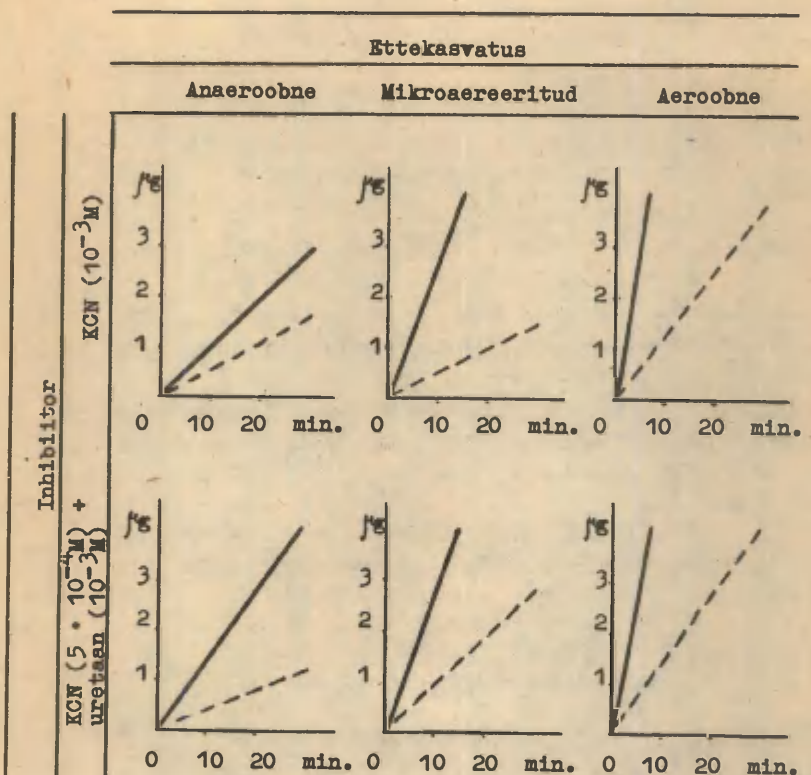
Nitritlämmastiku tekke dünaamika
Achromobacter agile mittekasvavates ekspositsioonisuspensioonides ($\text{NO}_2\text{-N}$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ üld-
 -algu kohta)

Inhi- biitor	Aeg ekspo- sitsiooni algusest min.	Ettekasvatus					
		Anaeroobne		Mikroaereeritud		Aeroobne	
		E k s p o s i t s i o o n					
		Anae- roobne	Aeroob- ne	Anae- roobne	Aeroob- ne	Anae- roobne	Aeroob- ne
<u>KCN</u> (10^{-3}M)	10	1,0	0,52	2,70	0,50	6,61	1,20
	20	1,95	1,02	5,36	1,03	8,00	2,37
	30	3,05	1,52	5,81	1,48	8,00	3,68
<u>KCN</u> ($5 \cdot 10^{-4}\text{M}$) + uretaan (10^{-3}M)	10	1,37	0,43	2,71	0,92	5,51	1,33
	20	2,70	0,95	5,39	1,81	7,02	2,60
	30	3,15	1,28	8,13	2,77	8,20	4,01

Tabel 2

Achromobacter agile tsütokroomiseoselise
 nitraadi reduktaasi osatähtsus üldisest
 denitrifitseerivast aktiivsusest
 (protsentides)

Ekspositsioonirežiim		Ettekasvatusrežiim		
KCN	Ureetaan	Anaeroobne	Mikro- aereeritud	Aeroobne
+	-	50	82	82
+	+	48	67	76



JOONIS. Nitritlämmastiku (NO_2^- -N $\mu g/mg$ üldvalgu kohta) tekke dünaamika lineaarsuspiirkonnad *Achromobacter agilis* mittekasvatavates ekspositsioonikultuurides (— anaeroobne ekspositsioon, ---- aeroobne ekspositsioon).

- D.Chang, I.Lascelles, 1963. Biochim.J., 89, 3.
 M.Dickson, E.Webb: М.Диксон, Э.Уэбб, 1964. "Ферменты".
 "Мир". Москва, 1966. 342.
 R.Downey, D.Kiszkiss, I.Nuner, 1968. J. Bacteriol., 98, 3.
 I.Katsuyuki, A.Akira, S.Ryo, 1968. J. Biochem., 63, 2.
 H.Lowry, T.Rosebroug G.Farr, R.Randall, 1951.
 J. Bio. Chem., 193, 265.
 A.Nason, H.Evans, 1955. In: "Methods in Enzymology", vol. II.
 Acad. Press Inc. New York, 1955. 411.
 D.J.D.Nicholas, A.Nason, 1954. J. Biol. Chem., 207, 353.
 F.Pinchinoty, M.Piechaud, 1968. Ann. Inst. Pasteur, 114, 1.
 V.Tohver, 1958. TRÜ Toimetised, 55.
 V.Tohver, 1970. X Int. Congress Mikrobiol. Abstracts. Bd, 135
 I.Van'T Riet, A.Stouthamer, R.Planta, 1968. J. Bacteriol.,
96, 5.

О ВЛИЯНИИ КИСЛОРОДА ВОЗДУХА НА НИТРАТРЕДУКТАЗНЫЕ СИСТЕМЫ АСНРОМОВАСТЕР AGILE

А. Д а в и н г

студент IV курса

(Руководитель доц. В. Т о х в е р)

Изучали значение режима аэрируемости маточных культур Achr.agile и режима экспозиции нерастущих клеток этих культур в восстановлении нитратов цитохромсвязанной и флавопротеидной нитратредуктазных систем. Выявлена резкая индуцируемость O_2 первой системы, удельная часть которой составляет, в зависимости от условий, 48...82 % от всей денитрифицирующей активности клеток. Выдвинута рабочая гипотеза, согласно которой возможна конкуренция по цитохромному белку между дыхательной и нитратредуктазной систем, при чем фактором альтернатива является присутствие кислородного воздуха.

PUUKOOLIDE MULLAVÄSIMUSEST

H. T i i v e l

V kursuse üliõpilane

(Juhendaja dots. L. V i i l e b e r g)

Põllumajanduses on oluliseks probleemiks mulla toksilisuse ehk mullaväsimuse põhjuste selgitamine. Juba ammu teati, et ei ole soovitatav kasvatada monokultuure pikemat aega ühel ja samal põllul. Mullaväsimuse tekkimise põhjuste kohta on mitmesuguseid arvamusi.

Ühed uurijad peavad mulla toksilisuse põhjuseks toitainete mitteküllaldast esinemist, seda eriti just molübdeeni ja boori osas ning nende mullast väljaviiimist monokultuuridega (Пассел, 1955). Rohkem levinud on aramus, et mulla väsimust põhjustavad mulda kogunenud toksilised ained (Красильников, 1958 ; Börner, 1963; Мийдла, 1965; Мороз, 1967; Берестецкий, 1967-1969).

Taimejuurte poolt mulda eraldatud orgaanilised ja anorgaanilised ained on energia allikaks mikroobidele, kes ka ise eritavad keskkonda mitmesuguseid laguprodukte. Seega olenevalt kultuurist selle risosfäär kas soodustab või piidurdab teatud mikroobide arengut (Красильников, 1958). Ka juurte laguproduktid stimuleerivad toksiliste mikroobide arengut ja nende poolt toksiinide moodustamist (Börner, 1963; Берестецкий, 1968, 1969).

Vanades õunaaedades täheldatakse bakterite ja seente arvukuse mõningat suurenemist, eriti aga toksiliste vormide kogunemist. Mikrofloora uurimisel selgus, et põhilise osa toksiinidest moodustavad mikroseened. Sagedamini esinevad seente perekondadeks on Penicillum, Fusarium, Aspergillus,

Alternarium (Берестецкий, 1967a, 1967c).

Fenoolsete ühendite universaalne levik taimedes näitab, et nimetatud ained peavad etendama tähtsat osa taimede oksüdeerumis-redutseerumis protsessides, kasvuregulatsioonis, immuniteedi ja külmakindluse kujunemisel (Мийдла, Мардистер, 1968). Tähtsaimaks fenoolseks ühendiks õunapuus on floridsiin, mis esineb perekonna Malus kõikides liikides, ei esine aga pirni-, kirsi-, ploomi- ja murelipuu juurtes. Õunapuu sort 'Antonovka' juured sisaldavad fenoolsetest ühenditest kõige rohkem floridsiini ja seda just koore osas (8,6 - 14,7 protsenti) 10-12 korda rohkem kui puidus. Õunapuu vananemisel floridsiinisaldus suureneb (Мийдла, 1965; Морос, 1967; Аометс, 1968; Берестецкий, 1969). Õunapuu juurte kooreosa vesileotised kontsentratsioonis 1 : 100 ja puidu osast 1 : 20 tugevasti inhibeerivad seemikute kasvu (Морос, 1967).

Toksilised ained võivad mulda koguneda ka väetiste ja taimekaitsevahendite sisseviimise tõttu.

Mulla mikrofloora on dünaamilises seoses ökoloogiliste tingimuste muutumisega. Noorte puude istutamisel vana-desse aedadesse see tasakaal rikutakse. Seega toksilisus on seotud mulla tüübi, kultuuri bioloogiliste iseärasuste, juurte eritiste ja risosfääri mikroflooraga.

Metoodika

Kahe aasta (1969-1970) jooksul uuriti Tartu rajooni Vasula sovhoosi õunapuukooli muldi. Vaatluse alla võeti puukool, mis oli antud alale rajatud esmakordselt (normaal-ne puukool, III variant) ja veel teine puukool, mis oli rajatud endise puukooli asemele (väsinud puukool, I variant).

Normaalsed puukoolid rajati 1966.a., väsinud puukool 1965.a. Väsinud puukoolis puude kasv oli pidurdatud, tüved kõverdunud, oksad tugevasti hargnenud kuid seejuures ki-

durad. Puude pikkus ei ületanud poolt meetrit. Normaalse-
tes puukoolides olid puud hästi arenenud, pikkus 1,5 kuni
2 meetrit. Esimesel katseaastal oli vaatluse all üks nor-
maalne puukool (III variant 69.a.), mis sügisel likvideeri-
ti ja teisel katseaastal oli vaatluse all teine normaalne
puukool (III variant 70.a.).

Mullaproovid võeti puude võra ulatuses märgistatud
kohtadest mullapuuriga 2 kuni 40 cm sügavuselt. Kontroll-
proov võeti aga ridade vahelt puudeta alalt (II, IV variant).

Muld toodi TRÜ taimefüsioloogia ja -biokeemia kateed-
risse, kus toimusid laboratoorsed tööd ja vegetatsioonikat-
sed. Mullamikroobide põhiliste füsioloogiliste rühmade ar-
vukus määrati üldtuntud mullalahjenduste meetodil. *Roisu-*
bakterid määrati lihapeptonagaril, nitrifitseerijad *Vino-*
gradski söötmel, denitrifitseerijad *Hiltay* söötmel, *Cl. pas-*
teurianum *Vinogradski* söötmel, *Azotobacter* *Ashby* söötmel,
aeroobsed tselluloosilagundajad *Hutchinsoni* söötmel ja see-
ned õllevirdel. Mulla füüsikalise-keemilistest omadustest
määrati potentsiomeetriliselt (P-307) pH ja Kh. Nitraatläm-
mastikusisaldus määrati kolorimeetriliselt. Mullas esineva-
test fenoolidest määrati p-hüdroksübensoesehappe-, vanilliin-
happe-, ja sirelhappesisaldus *Бардинская* (1962) ning
Koblitz (1964) meetodil *Miidla* (1967) modifikatsiooni jär-
gi.

Vegetatsioonikatsed viidi läbi kasvuhuones. Rajati 4
katset salati ja 2 katset õunapuuseemnetega. Kasutati lille-
potte, mis täideti puukoolide mullaga (1,2 kg), kuhu külvati
15 seemet. Iga katsevariant esines kuues korduses. Jälgiti
taimede tärkamist ja kasvudünaamikat (möödeti pikkust).

Katsetulemused ja arutelu

Uuritavad puukoolid asusid keskmise viljakusega savi-

liivmullal, mille niiskus oli madal (10-15 protsenti). Hea agrotehnika tõttu olid katsemullad küllaldaselt aereeritud. Mulla reaktsioon oli kevaditi neutraalsele lähedane ja suviti nõrgalt leeliseline. Nitraatlämmastiksisaldus mullas oli madal, seda eriti vegetatsiooniperioodi esimesel poolel. Uuritud fenoolsetest ühenditest oli kõige rohkem vanilliinhapet ($2,2-2,4 \mu\text{g/g}$) sellele järgnes sirelhape ($1,5-1,9 \mu\text{g/g}$) ja p-hüdroksübensoehape ($1,2-1,6 \mu\text{g/g}$). Puukoolide muldades oli seotud fenooli rohkem kui vabu, mis eriti selgesti ilmneb väsinud puukooli mulla puhul (tabel 1).

Mullamikroobide põhiliste füsioloogiliste rühmade arvukus normaalse puukooli mullas oli suurem kui väsinud puukooli mullas. Seda kinnitab andmete statistiline töötlus (Бейли, 1960), ülemise ja alumise usalduspiiri leidmine. Aluseks võttes aktiivarve (mikroobirühma arvukuse summa vegetatsiooni perioodil) võib öelda, et kõige olulisemalt erineb aeroobsete tselluloosilagundajate arvukus. Teiste füsioloogiliste rühmade puhul erinevused on väiksemad (tabel 2).

Vegetatsioonikatsetest selgus, et uuritavate puukoolide mullad eipärssinud salati tärkamist ja arenemist (välja arvatud 1970.a. normaalse puukooli muld). Ünapuuseemnete tärkamist ja taimede arenemist pärssis aga oluliselt väsinud puukooli muld (tabelid 3 ja 4). Väsinud puukooli mullas (I) idanes 2-3 salati seemet vähem kui normaalse puukooli mullas (III, 69.a.). Erinevus ilmnas alates 6. idanemispäevast. Suhteliselt halvem oli salati idanemine ja arenemine normaalse puukooli mullas (III, 70.a.). Kui väsinud puukooli ja normaalse puukooli mullas (III, 69.a.) salatitaimede keskmine pikkus oli 11-15 cm, siis normaalse puukooli mullas (III, 70.a.) aga ainult 5-7 cm. Suve lõpul rajatud katsetes olid erinevused väiksemad. Väsinud puukooli mullas (I) kontrolliga (II) võrreldes salati tärkamises erinevusi polnud, küll aga erines taimede kasv, mis väsinud puukooli mullas toimus aeglasemalt. Taimede keskmine pikkus väsinud puukooli mullas oli 12 cm, tema kontrollmullas aga

Tabel 1

Fenoolsete ühendite sisaldus
 Mg-des 1 g kuiva mulla kohta (1969)

Ühend	Kuu- päev	Variant			
		I	II	III	IV
Sirelhape seotud	6.V	0,98	1,00	0,96	0,66
	7.X	0,83	0,84	0,82	0,85
vaba	6.V	0,98	0,94	0,91	
	7.X	0,88	0,76	0,72	0,61
p-Hüdroksü- bensoehape seotud	6.V	0,69	0,69	0,68	0,66
	7.X		0,67	0,69	0,89
vaba	6.V	0,60	0,69	0,63	0,56
	7.X	0,87	0,54	0,48	0,49
Vanilliinhape seotud	6.V	1,00	1,42	1,50	1,50
	7.X	1,60	1,20	1,20	3,20
vaba	6.V	1,09	0,80	1,13	1,25
	7.X	0,85	1,20	1,26	1,24

Tabel 2

Mullamikroobide füsioloogiliste
 rühmade arvukus 1 g kuiva mulla kohta

Rühm	Kuu- päev	Variant			
		I	II	III	IV
Roisubakterid miljonites	26.V 70	1,04	0,62	0,59	0,76
	25.VI 69	0,25	0,10	0,16	0,29
	31.VII 70	1,57	0,23	0,91	0,75
	7.X 69	1,35	1,23	1,28	1,45

Nitrifitseerijad miljonites	26.V 70	0,33	0,46	2,85	0,84
	25.VI 69	0,43	0,65	0,77	0,31
	31.VII 70	0,18	0,12	0,01	0,01
	7.X 69	1,85	4,58	23,60	4,59
Denitrifitseerijad sadades tuhandetes	26.V 70	0,82	2,85	0,29	0,84
	25.VI 69	4,84	2,72	1,68	0,42
	31.VII 70	0,47	0,50	-	0,28
	7.X 69	0,29	0,34	0,53	5,16
Cl. pasteurianum tuhandetes	26.V 70	1,66	108	17,10	16,82
	25.VI 69	0,65	0,66	0,67	0,62
	31.VII 70	0,97	0,34	0,78	2,26
	7.X 69	51,80	7,44	17,70	126,50
Asotobakteri koloo- niate arv	26.V 70	11	148	11	-
	25.VII 69	14	25	33	53
	31.VII 70	21	11	-	-
	7.X 69	92	8	83	332
Aeroobsed tsellu- loosilagundajad sadades	26.V 70	5,00	125,30	0,80	10,70
	25.VI 69	2,70	4,90	2,80	0,90
	31.VII 70	1,00	0,10	0,20	0,20
	7.X 69	2,90	2,90	16,50	12,60
Seened kümnetes tuhandetes	26.V 70	2,43	5,13	3,54	4,15
	31.VII 70	2,25	3,36	3,12	2,38

Tabel 3

Salati 'Kivipea' tärkamise dünaamika

Variant, katse algus	Tärkanud taimede arv 4. kuni 15. päeval														
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
I 28.VI 69	2	3	3	5	6	7	7	7	8	8	8	8			
13.X 69				1	2	2	2	2	2	2	2	3			
1.X 70					3	3	3	4	4	4	5	5			
4.VIII 70					1	1	1	1	2	3	5	5			
II 13.X 69				1	2	3	3	3	3	3	4	4			
1.VI 70					2	3	3	4	4	4	5	5			
4.VIII 70							1	1	2	3	3	3			
III 28.VI 69	1	4	6	7	8	9	10	10	10	10	10	10			
13.X 69				1	4	4	4	5	5	6	6	6			

1.X 70	1	1	1	1			1	1
4.VIII 70	1	2	2	3	4	4	4	4
IV 13.X 69	1	3	4	5	5	5	5	5
1.VI 70		1	1	1	1	1	1	2
4.VIII 70				1	1	1	1	2

Tabel 4

Õunapuuseemnete tärkamise dünaamika (1970)

Variant, katse algus	Tärganud taimede arv 9. kuni 30. päeval												
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20-30	
I 1.VI 4.VIII		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1
II 1.VI 4.VIII			3	3	3	5	7	8	8	8	8	9	4
			2	2	2	3	3	4	4	4	4	4	
III 1.VI 4.VIII	2	3	3	3	3	3	4	7	7	8	8	8	3
		1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	3	
IV 1.VI 4.VIII		1	1	1	1	1	1	2	2	4	5	5	3
								1	1	1	1	3	

15 cm (sügisel katses vastavalt 5 ja 9 cm).

Kui üheaastaste taimede (salat) idanemises olulist erinevust ei esinenud, siis seda selgemalt ilmses see õunapuuseemnetega katses (tabel 4). Vaatamata sellele, et tegemist oli stratifitseeritud seemnetega, oli õunaseemnete idanemine äärmiselt madal. Kontrollmullas idanes ligikaudu kolm korda rohkem seemneid kui väsinud puukooli mullas. Normaalse puukooli mullas oli idanemine niisama hea kui väsinud puukooli kontrollmullas.

Vegetatsioonikatsed näitavad, et väsinud puukooli muld on õunapuuseemnetele toksiline, salatiseemnetele aga mitte.

Normaalse ja väsinud puukooli mullad erinevad üksteisest oluliselt nii füüsikalise-keemiliste kui ka mikrobioloogiliste näitajate poolest.

K i r j a n d u s

- Aomets, 1968. Fenoolsete ühendite sisaldusest õunapuu juurtes olenevalt väetis- ja niiskuse režiimist. Diplomitöö. Tartu, TRÜ taimefüsioloogia ja biokeemia kateeder.
- H.Börner, 1963. Phytopathol. Z., 49, 1, 1.
- H.Koblitz, 1964. Flora, 154, 511.
- H.Miidla, 1967. Flora, A, 158, 119.
- H.С.Бардинская, Т.А.Шуберт, Л.Д.Прусакова, 1962. О регуляторах роста полифенольной природы. Докл. АН. СССР, 112, 1, 222.
- H.Бейли, 1960. Статистические методы в биологии. М.
- О.А.Берестецкий, 1967 а.1 Межвузовское совещание по вопросам агрофитоценологии. Изд-во Казанского ун-та, 62.
- О.А.Берестецкий, 1967 в. Проблема азота и урожай на Полесье. Киев. "Урожай", 467.
- О.А.Берестецкий, 1967 с. Тезисы докладов второго всесоюзного симпозиума по физиолого-биохимическим основам формирования растительных сообществ (фитоценозов). Киев. "Научковая думка", 42.
- О.А.Берестецкий 1968. Научные основы рационального использования почв черноземной зоны СССР и пути повышения их плодородия. Изд-во Кишиневского ун-та, 241.
- О.А.Берестецкий 1969. Роль микроорганизмов и корневых остатков в токсикозе садовых почв. Автореферат. М.

- Н.А.Красильников, 1958. Микроорганизмы почвы и высшие растения. Изд-во АН СССР, 305.
- Х.Мийдла, 1965. Вторая биохимическая конференция прибалтийских республик и белорусской ССР. Рига. "Зинатне", 145.
- Х.Мийдла, М.Мардисте, 1968. Фенольные соединения и их биологические функции. М. "Наука", 238.
- П.А.Мороз, 1967. 1 Межвузовское совещание по вопросам агрофитоценологии. Изд-во Казанского ун-та, 64.
- Э.Рассел, 1955. Почвенные условия и рост растений. Л.-М.

О ПОЧВОУТОМЛЕНИИ В НИТОМНИКАХ

Х. Т и и в е л ь

студент V курса

(Руководитель доц. Л. В и й л е б е р г)

Резюме

Изучали состав микрофлоры (гнилостные бактерии, нитрификаторы, денитрификаторы, азотобактер, целлюлозопаразит. бактерии, грибы) и содержание фенольных соединений (оксибензойная, ванилиновая и сиреневая кислоты) в утомленной и нормальной почвах питомника Вааулаского совхоза, а также в этих же почвах в вегетационных опытах.

Выявлено, что численность основных физиологических групп почвенных микроорганизмов значительно выше в нормальной почве, чем в утомившейся почве соседнего участка. Особенно ярко это выражается у аэробных целлюлозопаразитающих бактерий. Результаты вегетационных опытов показывают, что утомившаяся почва оказывает токсическое влияние на семена яблони, почвы характеризуются содержанием в ней вышеуказанных фенольных соединений.

**ATSETAADI OMASTAMINE ACHROMOBACTER AGILE
KASVAVATE KULTUURIDE JA RAKUSPENSIOONIDE POOLT**

M. V a r j u n

IV kursuse üliõpilane

(Juhendaja van.-õp. J. S i m i s k e r)

Atsetaat on üheks tsentraalseks metaboliidiks, mis osaleb paljudes metabolismi teedes. Rida mikroorganisme on võimalised kasutama atsetaati, kui ainsat süsiniku ja energia allikat.

Loomades ja taimedes toimub teatavasti atsetaadi oksüdeerimine Krebssi tsükliks, mille tulemusena tekib rida anabolismis kasutatavaid metaboliite ja oksüdatiivse fosforülimise tulemusena ATP. Atsetaadi omastamine Krebssi tsükli osavõtul pole aga võimalik juhul, kui atsetaat on ainsaks süsiniku allikaks. Viimane on tingitud sellest, et ühe mooli atsetaadi oksüdeerimisel Krebssi tsükliks regenereeritakse ainult üks mool atsetaadi aktseptorit - oksaalatsetaati. Tsükli vaheproduktide kasutamine biosüsteesis on sellisel juhul võimatu.

Käesoleval ajal on teada kaks teed atsetaadi täiendavate aktseptorite moodustamiseks: 1) Isotsitraadi lõhustamine suksinaadiks ja glüoksülaadiks (Glüoksülaadi tsükkel) ja 2) oksaalatsetaadi süntees CO_2 ja atsetaadist (Kornberg et. Elsdén, 1961; Gest et. al. 1962).

Esimene moodus on iseloomulik aeroobsetele, teine aga anaeroobsetele mikroorganismidele, mis sisaldavad madala

potensiaaliga elektronide ülekandjat ferredoksiini (Warner et. al. 1969).

Seoses eelpoolöelduga pakkus meile huvi uurida atsetaadi metabolismi denitrifitseerivatel bakteritel, mis arenedes anaerobioosis nitraadi juuresolekul tänu oma modifitseerunud elektrontranspordiahelale moodustavad vahepealse grupi anaeroobsete ja aeroobsete mikroorganismide vahel.

Metoodika

I Kasvavad kultuurid.

Achromobacter agile t kasvatati anaeroobselt argooni atmosfääris söötmel, mis sisaldas: Na-atsetaati - 1,44 g; KNO_3 - 1g; KH_2PO_4 - 1g; K_2HPO_4 - 1 g; MgSO_4 - 2 g; CaCl_2 - 0,2 g; FeCl_3 - jäljed ja destilleeritud vett - 1000 ml. Variant A puhul lisati söötmele 0,2 % NaHCO_3 . Proove võeti iga 12 tunni järel ja igas proovis määrati atsetaadi, nitraatlämmastiku ja valgusisaldus.

II Rakususpensioonid.

Rakususpensioonid valmistati Achromobacter agile 48-110 tunnistest kultuuridest. Mikroobide ettekasvatus toimus mikroaerofiilselt. Rakud eraldati söötmest külmutus-tsentrifuugiga väljatsentrifuugimise teel ja suspendeeriti eelnevalt 0° -ni jahutatud fosfaatpuhvril. Saadud suspensioon soojendati vesivannil 30° -ni ja lisati vastavalt kas Na-atsetaati, KNO_3 ja NaHCO_3 või Na-atsetaati ja KNO_3 samades kontsentratsioonides kui söötmes. Katse ajal asus rakususpensioon argooni atmosfääris. Proove võeti iga 15-20 minuti järel ja määrati neist atsetaadi sisaldus.

Atsetaat eraldati eelnevalt 10 %-lise H_3PO_4 -ga hapustatud proovist destilleerimisel veeauruga. Tema kogus määrati tiitrimisel kindla kontsentratsiooniga NaOH-ga.

Nitraatlämmastik määrati fenüülsulfoonhappega. Opti-

line tihedus määrati FEK M-ga kasutades sinist filtrit. Nitraatlämmastiku hulk $\mu\text{g/ml}$ leiti etalongraafikult.

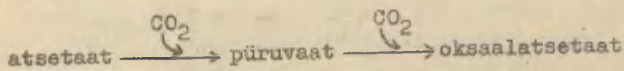
Valgu sisaldus määrati Lowry järgi (Lowry et. al. 1951). Optiline tihedus määrati FEK M-ga kasutades punast filtrit. Valgu hulk saadi etalongraafikult.

Katsetulemused ja arutelu

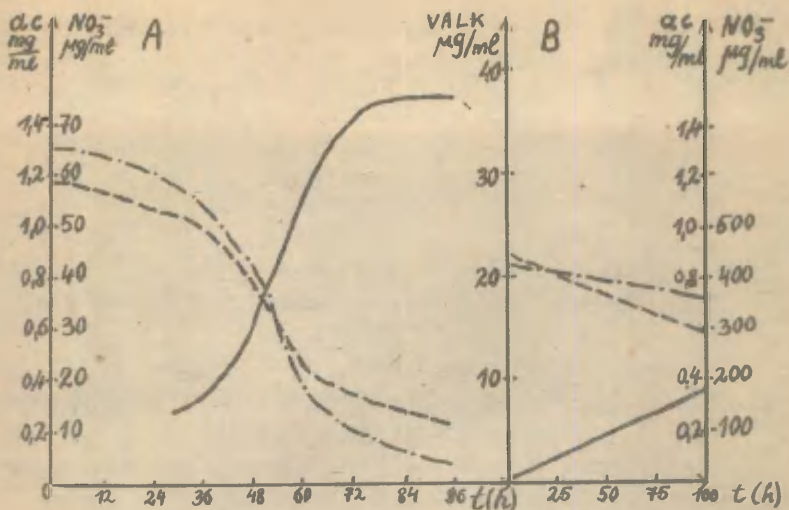
Nagu näitas mikroobide kasvu uurimine söötmel atsetaadiga (joonis 1) on Achromobacter agile arenemine sõltuvalt vesinikkarbonaadi esinemisest söötmes. Kultuuride kasv (otsustades valgu kogunemise järgi) söötmes, milles puudus vesinikkarbonaat algas hiljem ja üldine valgu saagis oli tunduvalt madalam. Ka nitraatide kasutamine oli vesinikkarbonaadi puudumisel pidurdatud. Sama seaduspärasus ilmnis ka katsetes rakususpensioonidega (joonis 2). Märkatav atsetaadi kasutamine toimus ainult vesinikkarbonaadi juuresolekul.

Peab märkima, et atsetaati kasutasid ainult rakususpensioonid, mis olid valmistatud noortest kultuuridest (48 t). Statsionaarsesse faasi jõudnud kultuuridest valmistatud rakususpensioonides atsetaadi omastamist ei täheldatud.

Ülalkirjeldatud atsetaadi omastamise sõltuvus vesinikkarbonaadist on iseloomulik paljudele anaeroobsetele mikroorganismidele, millised moodustavad oksaalatsetaati CO_2 -st ja atsetaadist järgmise reaktsiooni võrrandi kohaselt (Buchanan et. al. 1967; Decker et. al. 1966):



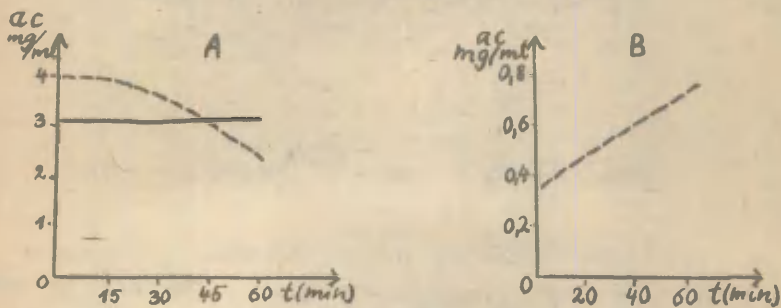
See analoogia lubab oletada, et Achromobacter agile võib esineda atsetaadi omastamisel samalaadne mehhanism. Seoses eelpoolöelduga on huvitav märkida, et atsetaadi taan-



JOONIS 1. Atsetaadi ja nitraatide kasutamine ning valgu kogunemine Achromobacter agile kasvavates kultuurides.

— valk, ---- atsetaat, -.-.- nitraadid

A - NaHCO_3 manulusel; B - NaHCO_3 puudumisel



JOONIS 2. Atsetaadi omastamine Achromobacter agile raku-suspensioonides (0,1M fosfaatpuhver, pH 7,0; valk 130 mg/ml)

— NaHCO_3 puudumisel, ---- NaHCO_2 manulusel

A - noor kultuur (48 h); B - vana kultuur (110 h)

dav karboksüülimine on avastatud ka sulfaati redutseerivate bakterite juures (Buchanan, 1969).

K i r j a n d u s

- B.B.Buchanan, 1969. J. Biol. Chem. 244, 15.
B.B.Buchanan, M.C.Evans, D.J.Arnon, 1967. Arch. für Mikrobiol. 59, 32.
K.Decker, Ch.Barth and H.Metz, 1966. Biochem. z. 345, 472.
M.Gest, J.G.Ormerod and K.S.Ormerod, 1962. Arch. Biochem. and Biophys. 97, 21.
H.L.Kornberg, S.R.Elsden, 1961. Advances Enzymol. 23, 551.
H.Lowry, T.Rosebroug, G.Farr, R.Randall, 1951. J.Bio. Chem. 193, 265.
S.W.Warner., E.Vanderwinkel, H.C.Reeves and J.S.Ajl, 1969. Arch. Biochem. and Biophys. 129, 441.

УСВОЕНИЕ АЦЕТАТА РАСТУЩИМИ КУЛЬТУРАМИ СУСПЕНЗИЯМИ КЛЕТОК ACHROMOBACTER AGILE

М. В а р ь н

студент IV курса

(Руководитель ст. преп. Я. С и и и с к е р)

Исследовали усвоение ацетата растущими культурами и суспензиями клеток *Achromobacter agile*. Установили, что рост бактерий на среде с ацетатом зависит от наличия NaHCO_3 . В отсутствие бикарбоната развитие культуры задерживался. Заметное употребление ацетата суспензиями клеток наблюдалось только в присутствии бикарбоната.

MONO- JA OLIGOSAHHARIIDIDE OMASTAMINE PÄRMSEENTE TÖÖSTUSLIKE RASSIDE POOLT.

T. K u r i s o o

V kursuse üliõpilane

(Juhendaja van.-õp. J. S i m i s k e r)

Tööstuslikult kasutatavate pärmseente rasside kultiveerimine toimub valdavalt mitmesugustel sahhariididel, mida saadakse toiduainete- ja puidutööstuse jääk- või kõrvalproduktidest. Pärmseente rassid erinevad üksteisest sahhariidide omastamise võime ja substraadi kasutamise kiiruse poolest. Erinevate sahhariidide utiliseerimisvõime on ka pärmseente klassifitseerimise üheks aluseks.

Sahhariidide omastamisel pärmseente poolt ilmuvad mõningad üldised seaduspärasused. Kõik pärmseened on võimelised omastama glükoosi. Koos glükoosiga omastatakse reeglina ka fruktoosi ja mannoosi (Lodder et al., 1958). Laktoosi omastavad pärmseened on auksotroofsed vitamiin PP osas (Павловский и Килеминская, 1965). D-ksüloosi ja L-arabinoosi omastamine pärmseente poolt toimub ainult aeroobsetes tingimustes (Horecker, 1962). Teiste suhkrute omastamine anaerobloosis sõltub anaeroobse käärimistüübi esinemisest pärmseentel. Suhkruid, mida pärmseened omastavad anaeroobselt, omastatakse alati ka aeroobsetes tingimustes. Seepärast on sahhariidide aeroobne omastamine pärmseente klassifitseerimisel üheks tähtsamaks tunnuseks (Novák a. Zsolt 1964). Horecker (1962) andmete kohaselt on ksüloosi omastavatel pärmseentel võime oksüdeerida NAD-spetsiifilise polüooli dehüdrogenaasi abil mitmeid suhkur-

alkohole (sealhulgas ka mannitooli) aldoosideks ja ketoosideks. Galaktoosi omastavatel pärmseentel indutseeritakse uus permeaassüsteem, mis hõlbustab ka teiste galaktoosi tüüpi suhkrute (n. L-arabinoos) transporti rakku (Kotyk a. Haškovec, 1968). Sõltuvalt sellest võib oletada, et paljud arabinoosi omastavad pärmseened kasvavad ka kergemini utiliseeritaval galaktoosil.

Käesoleva töö eesmärgiks oli määrata pärmseente 28 eri rassist suhkrute omastamisvõime; uurida sahhariidide omastamise üldisi seaduspärasusi pärmseentel, püüda leida korrelatsiooni ksüloosi ja mennitooli ning arabinoosi ja galaktoosi omastamisvõime vahel; kontrollida antud rasside nomenklatuuri vastavust liigi kirjeldusele.

Liigilise koostise määramine osutub praktiliseks vajaduseks puhaskultuuridega töötamisel, sest muuseumkultuuride pikaajalisel säilitamisel rutiinsete ümberkülvidega esineb sageli võõrpärmidega saastumise oht. Kasutatud pärmseente rassist saadi V.Kingissepa nim. Tallinna Tselluloosi- ja Faberikombinaadi pärmitehasest ja sm. J.Soomilt (Leningradi Riikliku Ülikooli Bioloogia Instituut, füsioloogilise geneetika laboratoorium).

Metoodika

Pärmseente suhkrute omastamisvõime uurimiseks kasutati järgmise koostisega söödet: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 5 g; KH_2PO_4 - 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 g; uuritavat suhkrut - 10 g; pärmiautolüsaati - 1 ml, agar-agar - 30 g; veevärgivesi 1000 ml.

Vedeldatud sööde valati Petri tassidesse, jahutati ning teostati joonkülv uuritavate pärmseente kultuurist. Inkubeeriti 48 tundi aeroobselt. Suhkrute omastamisvõimet hinnati visuaalselt pärmseente kasvu järgi.

Liigi Candida utilis tuvastamiseks uuriti ka nitraa-

tide omastamise võimet söötmes: KH_2PO_4 - 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 g; glükoos - 20 g; KNO_3 - 5 g; agar-agar - 25 g; veevärgivesi 1000 ml.

Pärmseente auksotroofsuse määramiseks kasutati Karasevitši poolt välja töötatud metoodikat (Карасевич, 1957). Liigilise kuuluvuse määramiseks võeti tarvitusele Novák'i ja Zsolt'i (1961) poolt koostatud liikide määramistabelid.

Tulemused ja arutelu

Tabelis on toodud suhkrute omastamine 28 eri rassi pärmseenel. + märk tähistab pärmseente kasvu antud suhkrul, (+) kasv on (nõrk), - kasv puudub.

Tabelist on näha, et kõik 28 pärmseente rassi on võimelised omastama glükoosi. Kõik 10 laktoosi omastavat pärmseente rassi vajavad ka kasvuaineid. Kolmel juhul võis täheldada selgelt väljenduvat auksotroofsust sõltumata laktoosi omastamisest. Kõik 22 ksüloosi omastavat pärmseente rassi kasvasid ka mannitoolil, mis viitab ilmselt korrelatsioonile ksüloosi ja mannitooli omastamise vahel. 11 arabinoosi omastaval pärmseente rassist oli ka võime kasvada galaktoosil. Ühel juhul (*Cryptococcus albidus*) arabinoosi omastamisvõimega galaktoosi omastamist ei kaasnenud. Korrelatsiooni puudumist antud juhul võib seletada perekonda *Cryptococcus* kuuluvate pärmseente erinevast fülogeneetilisest päritolust *Saccharomyces* ja *Candida* rühma kuuluvatest pärmseentest (Tsuchiya, 1965).

Siinjuures peab märkima, et galaktoosi omastamisega ei kaasne alati arabinoosi omastamine.

Sahhariidide ksüloosi, arabinoosi, tsellobioosi ja sorboosi omastamist ei loeta liigilise kuuluvuse määramisel vajalikeks tunnusteks. Ilmnud erinevused nende suhkrute omastamise osas viitavad aga sellele, et mõnel juhul hõlbustaks nende suhkrute omastamisvõime uurimine

liigi määramist. Ksüloosi, arabinoosi ja tsellubioosi omastamisvõime järgi võib ka otsustada nende pärmseente sobilikuse üle puidutööstuse jäätmete ümbertöötlemiseks.

Pärmseente liigilise kuuluvuse kontrollimisel ilnes, et mitmete rasside nomenklatuur ei vasta liigi kirjeldusele. *Candida guilliermondii* H-542 ei omasta maltoosi ja refinoosi (liigidiagnoosi kohaselt omastab neid suhkruid). *Candida lipolytica* H-342 omastab maltoosi, sahharoosi, galaktoosi ja rafinoosi (liigidiagnoosi kohaselt peaks olema maltoos⁻, sahharoos⁻, galaktoos⁻, refinoos⁻). *Candida pseudotropicalis* Y-922 omastab maltoosi ja laktoosi (peaks olema maltoos⁻, laktoos⁻). *Candida tropicalis* Yp-C-38; Yp-C-40; 311 ja D-25 omastavad laktoosi ja refinoosi (peab olema laktoos⁻, refinoos⁻). *C. utilis* omastab galaktoosi, ei omasta refinoosi ja nitraate (peab olema galaktoos⁻, rafinoos⁺, KNO₃⁺).

Torula candida omastab rafinoosi (peab olema rafinoos⁻).

Torulopsis utilis var. major, syn. *Candida utilis* Y-768 omastab galaktoosi; refinoosi ja nitraate ei omasta (peab olema galaktoos⁻, rafinoos⁺, KNO₃⁺).

Tööstuslikud pärmseente rassid *Torula* H₂ (Couche) Yp-C-38, Yp-C-42 ja Yp-C-47 omavad pseudomütseeli. See tunnus aga puudub *Torula* (*Torulopsis*) perekonda kuuluvatel pärmseentel.

Toodud erinevused liikidele iseloomulikest omadustest viitavad pärmseente muuseumkultuuride halvale seisukorrale ning mõnel juhul ilmselt ka liigilise kuuluvuse valele määratlusele.

Pärmseente suhkru-aseimilatsioonivõime karakteristikud

[illegible]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
20. <i>Monilia corealis</i> Yp-C-63	+	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-		+	+
21. <i>Saccharomyces fragrans</i> Y-434	+	+	+	+	-	+	+	+	(+)	-	+	+		+	+
22. <i>Torula H₂</i> (Couche) Yp-C-38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
23. <i>Torula H₂</i> (Couche) Yp-C-42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
24. <i>Torula H₂</i> (Couche) Yp-C-47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
25. <i>Torula candida</i> Y-692	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+
26. <i>Torula lambica</i> syn. <i>Candida tropicalis</i> var. <i>lambica</i> Y-700	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+
27. <i>Torulopsis flavescens</i> syn. <i>Cryptococcus laurentii</i> var. <i>flavescens</i> Y-731	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+
28. <i>Torulopsis utilis</i> var. <i>major</i> syn. <i>Candida utilis</i> Y-768	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	+	-	-			+

K i r j a n d u s

- B.L.Horecker 1962. "Pentose Metabolism in Bacteria",
New York
- A.Kotyk and C.Haškovec 1968. Properties of the Sugar
Carrier in Baker's Yeast. III Induction of
the Galaktose Carrier.
"Folia Mikrobiologica" 13, Nr.1, 12-19
- J.Lodder, Ch.W.Sloof and N.J.W.Kreger-van Hij, 1958
"The Chemistry and Biology of Yeasts"
Ed. by A.H.Cook, New York, p. 27
- E.K.Novák and J.Zsolt, 1961. A new system proposed for
Yeasts.
Acta Botanica, Academiæ Scientiarum Hungaricae,
7, Nr. 1-2, 93-145
- E.K.Novák and J.Zsolt 1964. Contributions to the taxonomy
and the identification of yeasts. Acta Botanica,
Academiæ Scientiarum Hungaricae, 10, Nr.3-4,
315-341
- T.Tsuchiya, Y.Fukazawa and S.Kawakita 1965. Significance
of Serological Studies on Yeasts.
Mycopathologia et Mycologia Applicata, 26, Nr.1,
1-15
- Ю.Н.Карасевич, 1957. Микробиология, 26, № 1, 105
- Т.М.Павловский, Т.П.Килеминская, 1965. О потребностях
в витаминах дрожжей рода Candida
"Микробиология", 34, № 1, 53-60

УСВОЕНИЕ МОНО- И ОЛИГОСАХАРИДОВ
ПРОИЗВОДСТВЕННЫМИ ШТАММАМИ ДРОЖЖЕЙ

Т. Куриссо

студент V курса

(Руководитель ст. препод. Я. Симицер)

(Резюме)

Исследовали усвоение сахаров (глюкозы, мальтозы, сахарозы, галактозы, лактозы, арабинозы, ксилозы, целлюбиозы, рафаноzy, сорбозы, маннитола) и проверяли видовую принадлежность 28 музейных штаммов дрожжей, имеющих производственное значение. С усвоением ксилозы у 22 штаммов сопровождается и усвоение маннитола. Штаммы дрожжей, усваивающие арабинозу, усваивают и галактозу. С усвоением лактозы сопровождается ауксотрофность дрожжей.

Различия в усвоении ксилозы, арабинозы, целлюбиозы и сорбозы могут быть диагностическими признаками при классификации дрожжей. У 13 штаммов видовая принадлежность не отвечает номенклатуре музейных культур.

AJUKOEST Na^+, K^+ -ATP-aasi PUHASTAMINE TIHEDUS
GRADIENDIS TSENTRIFUUGIMISEL

M. Z i l m e r

V kursuse üliõpilane

(Juhendajad dots.U.T a r v e ja dots.L.T H h e p õ l d)

Na^+, K^+ -aktiveeritav adenosiintrifosfataas e.
 Na^+, K^+ -ATP-aas (EC 3.6.1.3.) on rakumembraanis naatrium-
pumba ensümaatiliseks aluseks (J.Skou, 1965). Seda en-
süümi leidub kõige rohkem ajukoes, mis on ilmselt seotud
sellega, et närviimpulsi levikuga kaasneb Na^+ ja K^+
ioonide transport läbi aksonite membraani.

Na^+ ioonide aktiivne transport toimub tsütoplas-
mast intertitsiaalsesse koesse elektrokeemilise gradi-
endi vastu ning on seotud seetõttu energia kulutamise-
ga. Energia transformeeritakse ATP-st Na^+, K^+ -ATP-aasi
toimel.

Selleks, et uurida Na^+, K^+ -ATP-aasi omadusi kõr-
val mõjudeta on vajalik saada seda ensüümi kõrge puh-
tusastmega. Rida autoreid, kes uurivad Na^+, K^+ -ATP-aasi
omadusi on rõhutanud kõrge eriaktiivsusega ensüümprepa-
raadi isoleerimise komplitseeritust (J.Skou, 1957, 1965;
P.Jørgensen, J.Skou, 1969; C.Schoner jt. 1967; A.Schwartz,
A.Moore, 1968).

METOODIKA

Antud töös lähtuti Na^+, K^+ -ATP-aasi preparaadist,
mis oli saadud desoksükolaadiga töödeldud kassi või koe-
ra aju koorolluse homogenaatide differentsiaalse tsentri-

fuugimise teel.

Sel viisil saadud lähteensüümpreparaadi eriaktiivsus oli 5 katse keskmisena 2,1 ensüümi ühikut e. U (mg P₀ ühe minuti inkubatsiooni vältel 37°C juures) mg valgu kohta. ensüümpreparaadis. ATP-aasi aktiivsus määrati varemkirjeldataud meetodil (Л.Тягунько и др.1970) ja valgu hulk Lowry jt. järgi (H.Lowry jt.1925).

1 ml lähteensüümpreparaati kihitati eelnevalt loodud tiheduse lineaarsele gradiendile, mille maht oli 4ml ja ulatus 10-30%-ni sahharoosi lahust.

Saadud süsteem allutati kahetunnilisele tsentrifuugimisele 160.000xg juures ning Swing-out rootorit 3x5ml ja preparatiivset ultratsentrifuugi Vac-60 kasutades.

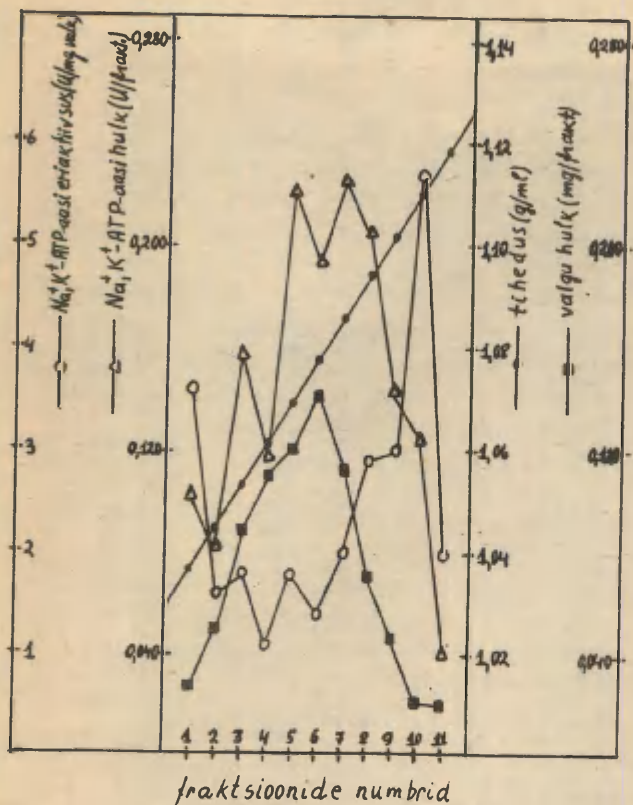
Peale tsentrifuugimist kogu gradient fraktsioneeriti 1l-ks fraktsiooniks, milleles määrati valgu hulk ja Na⁺,K⁺-ATP-aasi eriaktiivsus.

TULEMUSED JA ARUTELU

Nagu on näha jooniselt on Na⁺,K⁺-ATP-aasi eriaktiivsus 5 katse keskmisena kümnendas fraktsioonis (tihedusega I,II) 5,7 U/mg valku. Ensüümi ja valgu saagis pärast tsentrifuugimist võrreldes gradiendile kantud hulkadega olid vastavalt esimese jaoks 93% ja teise jaoks 103%. Fraktsioonides 3 ja 5-8 on ensüümi ja valgu hulk küll suurem kui 10-s fraktsioonis, kuid nende eriaktiivsus oli märgatavalt madalam võrreldes kümnenda fraktsiooniga.

Katsetulemustest järeldub, et tiheduse gradient tsentrifuugimise meetodil õnnestus suurendada Na⁺,K⁺-ATP-aasi preparaadi eriaktiivsust 2,1-lt 5,7-le, st. et Na⁺,K⁺-ATP-aasi sisaldava ensüümpreparaadi puhtusaste suurenes 2,7 korda.

Kirjanduse andmetel on ajukoe koorollusest saadud preparaatide kõige kõrgem eriaktiivsus olnud 3-4 U/mg valku (J.Skou,1965; C.Schoner jt.1967; A.Schwartz, A.Moore,1968)



Joonis. Na⁺K⁺-ATP-asei eriaktiivsuse ja hulga ning valgu hulga jaotumine sahharoosi lahuse tiheduse lineaarses gradiendis.

Üksikkatsel on saadud eriaktiivsuseks 5,0 U/mg valku (C.Schoner jt.1967).

Küüliku neeru sßsiolluse vßlimisest osast on gradient-tsentrifugimise teel saadud Jßrgensen'i poolt Na^+K^+ -ATP-aasi preparaati eriaktiivsusega 13 U/mg valku (P.Jßrgensen, J.Skou, 1969).

Sealjuures peaks aga mßrkima, et selle tßß juures kasutatud neeru kudet on vßimalik saada vßga vßikesel hulgal vßrreldes nßiteks ajukoe koorollusega, mis raskendab tunduvalt küllaldlase hulga puhastatud ensüüm-preparaadi saamist.

Samuti vßib ka mßrkida, et üksikutes katsetes õnnestus ka meie meetodil isoleerida ensüümpreparaati eriaktiivsusega üle 9. Nende tulemuste pßhjal vßib jßreldada, et sahharoosi-gradiendi meetod on küllalt perspektiivne Na^+K^+ -ATP-aasi puhastamisel.

KIRJANDUS

- P.Jßrgensen, J.Skou, *Physiol. Rev.*, 1969, 37, I.
- O.H.Lowry, M.J.Rosenbrough, A.L.Farr, R.J.Randall
J. Biol. Chem., 1925, 195, 265.
- C.Schoner, R.Kramer, W.Seubert, *J. Biochem. European.*, 1967, I, 334.
- A.Schwartz, A.C.Moore, *Am. J. Physiol.*, 1968, 214, II 63.
- J.Skou, *Biochem. et biophysica acta.*, 1957, 23, 394.
- J.Skou, *Physiol. Rev.*, 1965, 45, 596.
- Л. Я. Тяхепильд, У. С. Тарве, В. А. Лиллелехт, в сб. Труды V Всесоюзной конф. по нейрохимии стр. 437, Тбилиси, 1970.

ОБ ОЧИСТКЕ Na^+K^+ -АТФ-азы МОЗГА ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА
ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ В ГРАДИЕНТЕ ПЛОТНОСТИ

М.Ц и л ь м е р

сдудент у курса

(Руководители доц.У.Т а р в е и доц.Л.Т я х е п ы л ь д)

Резюме

Исходный энзимный препарат Na^+K^+ -АТФ-азы из коры головного мозга кошек и собак, полученный при помощи обработки гомогената с дезоксихолатом и дифференциальной центрифугировании, имел удельную активность 2,1.

При центрифугировании этого энзимного препарата в градиенте плотности сахарозы получили фракция (плотность I, II), в которой удельная активность Na^+K^+ -АТФ-азы был 5,7. Таким образом, при помощи этого метода удалось очистить исследуемый энзим в 2,7 раза.

FLORIDSIINI OKSÜDEERIMINE PEROKSÜDAASI TOIMEL

J. K a s k

V kursuse üliõpilane

(Juhendaja van.-õp. L. S a r a p u u)

Fenoolsetel ühenditel on kõrgemate taimede ainevahetuses väga mitmesugused funktsioonid: nad võtavad osa raku-kesta moodustamisest, osalevad koensüümide sünteesis, reguleerivad taimede kasvu, neid käsitletakse kaitseainetena.

Õunapuule iseloomulikuks fenoolseks ühendiks on floridsiin ($2'$, $4'$, $6'$, 4-tetraoksüdiühdrohalkoon-2'-glükosiid), millele omistatakse mitmeid metaboolseid funktsioone (Zapromjotov jt. 1971). Floridsiini sisaldus õunapuus allub nii ööpäevastele kui ka aastaringsetele sügavatele muutustele (Sarapuu, Toom, 1970). On ilmne, et floridsiini erinev sisaldus igal konkreetsel juhul on määratud teda sünteesivate ja lagundavate ensüümide poolt. Uurimisi floridsiini metabolismis osalevate ensüümide kohta on tehtud suhteliselt vähe. On teada sünteesi põhiprintsiibid, katabolismis võib osaleda o-difenooloksüdaas (Sarapuu, Heinaru, 1971).

Võib oletada, et floridsiini oksüdatsiooni katalüüsib ka peroksüdaas, mis osaleb analoogse struktuuriga fenoolsete ühendite oksüdeerimisel. Meile teadaolevatel andmetel on nimetatud probleemiga tegelnud vaid TRÜ lõpetanu K.Järviste.

Lähtudes eelpooltoodust, seatigi töö eesmärgiks uurida floridsiini oksüdeerimist peroksüdaasi toimel. Seejuures kasutati askorbaati, türosiini, kvartsetiini, klorogenaati ja floriglutsiini kui oletatavaid inhibiitoreid või aktivaatoreid.

Metoodika

Töö käigus kasutati puhtaid floridsiini ja peroksüdaasi preparaate.

Inkubatsioonisegusse kuulusid järgmised komponendid: floridsiin kontsentratsiooniga 3,54 mg/ml (2 ml), 1- protsendiline H_2O_2 lahus (0,2 ml), 0,375- protsendiline peroksüdaasi lahus (0,2 ml), erineva kontsentratsiooniga toimeaine (0,2 ml) ja 1/15 M fosfaatpuhver pH = 7,5 (0,4 ml). Segu üldmaht oli 3 ml. Reaktsioon viidi läbi temperatuuril 30°C ja inkubeeriti 1-5 tundi. Inkubatsioonisegu (0,2 ml) kanti kromatografeerimispaberile ja voolutati 24 tundi voolutis butanool-äädikhape-veesi vahekorras 100 : 19 : 35. Ultravioletvalguses määrati vooldunud kromatogrammidel floridsiini laigud, lõigati need välja, elueeriti 48- protsendilises etanoolilahuses (1,5 tundi) ja määrati optiline tihedus spektrofotomeetril lainepikkusel 283 nm. Floridsiinisaldus arvutati molaarse ekstinktsioonikoefitsendi abil (Sarapuu 1965).

Katsete tulemused ja arutelu

Saadud tulemused, mis on toodud tabelis, näitavad, et peroksüdaas katalüüsib floridsiini oksüdeerimist. Protsessi käigus moodustusid kaks identifitseerimata produkti R_p väärtustega 0,2 ja 0,3. Nimetatud oksüdeerimisprodukte õunapuu kudes ei leitud.

Katseandmetest võib järeldada, et floriglutsiin on floridsiini oksüdeerimisel peroksüdaasi toimet tõenäoliselt konkurentseks inhibiitoriks (tabelis 5. veerg).

Chmielnica (1967) väidab, et D-askorbaat on peroksü-

daasi substraadiks. Antud töös selgus, et D-askorbaat mõjub pikematel ekspositsiooniaegadel uuritavale reaktsioonile inhibeerivalt (tabelis 1. veerg).

La Dee ja Zennoni (1963) märgivad, et türosiini oksüdeerimine peroksüdaasi abil ei toimu. Katseandmetest selgub, et türosiin ei avalda mõju ka floridsiini peroksüdaasse oksüdeerimise normaalsele käigule (tabelis 2. veerg).

Muutumatuks jääb reaktsiooni käik ka inkubatsioonisegusse kvartsetiinilisamisel (tabelis 3. veerg).

Wetter ja Weisch (1961) väidavad, et NADH_2 oksüdeerimisel peroksüdaasi toimel osaleb klorogenaat mittekonkurentse inhibiitorina.

Katseandmed klorogenaadi inhibeerivat mõju veenvalt ei näita, kuid siiski ilmneb, et teataval määral on floridsiini oksüdeerimine peroksüdaasi toimel klorogenaadi juuresolekul alla surutud (tabelis 4. veerg).

On teada, et floridsiini juures võib toimuda C_3 -ahela oksüdeerimine või B-rõnga o-hüdrosüleerimine (Zapromjotov jt., 1971). Floridsiini oksüdeerimisel peroksüdaasi toimel tekkinud produktid ei ole aga oksühalkoonid ega 3-hüdrosü-floridsiin, mis tekivad ülalnimetatud reaktsioonides.

Arvestades asjaolu, et peroksüdaas oksüdeerib floriglutsiini, võib oletada, et uuritavas reaktsioonis oksüdeerub floridsiini A-rõngas (floriglutsiinrõngas).

Zapromjotov (1964, 1967) on näidanud, et loomorganismides esinevate katehhiinide A-rõnga lagunemine viib välja põhiainevahetuse produktideni.

Võib oletada, et analoogne protsess, mis algab A-rõnga oksüdeerimisega, toimub ka floridsiini juures. Sel juhul oleks floridsiini näol tegemist täiendava hingamissubstraadiga. Sellele viitab ka asjaolu, et floridsiini lagunemine on pungade puhkemisele kaasnev protsess, mille tulemusena viiakse floridsiini kontsentratsioon kõrge füsioloogilise aktiivsusega organites väga madalale.

Floridsiini kontsentratsiooni muutused katse käigus (mg/ml)

	Toimeaine	Askorbaat(1)	Türosiin(2)	Kvert- setiin(3)	Kloro- genaat(4)	Floro- glutsiin(5)
	Algkontroll	2,25	2,14	2,20	2,21	2,38
	Kontroll 1 tund	1,83	1,80	1,76	1,69	1,66
Toimeaine kontsent- ratsioon	5 10 ⁻² M 1 tund				1,78	2,09
	2,5 10 ⁻² M "				1,75	1,94
	5 10 ⁻³ M "	1,87	1,76	1,75	1,74	1,81
	5 10 ⁻⁴ M "	1,84	1,76	1,70	1,67	1,67
	5 10 ⁻⁵ M "	1,78	1,77	1,74	1,61	
	Kontroll 2 tundi	1,85	1,70	1,67	1,56	1,66
Toimeaine kontsent- ratsioon	5 10 ⁻² M 2 tundi				1,70	2,09
	2,5 10 ⁻² M "				1,68	1,90
	5 10 ⁻³ M "	1,89	1,72	1,68	1,58	1,74
	5 10 ⁻⁴ M "	1,81	1,72	1,65	1,51	1,64
	5 10 ⁻⁵ M "	1,76	1,80	1,67	1,57	
	Kontroll 5 tundi	1,64	1,66	1,58	1,50	
Toimeaine kontsent- ratsioon	5 10 ⁻² M 5 tundi					
	2,5 10 ⁻² M "					
	5 10 ⁻³ M "	1,84	1,72	1,59	1,48	
	5 10 ⁻⁴ M "	1,74	1,67	1,61	1,54	
	5 10 ⁻⁵ M "	1,70	1,72	1,62	1,43	

K i r j a n d u s

- J.Chmielnica, 1967. Acta Pol. Pharm., 24, 2
B.N.La Dee, V.G.Zannoni. 1963. Biochem. Biophys. Acta 67,
2
L.R.Wetter, A.C.Neisch, 1961. Can. J. Biochem. and Physiol.,
39
М.Н.Запрометов, 1967. Успехи современной биологии 63, 3
М.Н. Запрометов, 1964. "Биохимия катехинов". М. изд-во
"Наука".
М.Н.Запрометов, Л.П.Сарапуу, В.Я.Бухлаева, 1971. Физиол.
раст. 18. 1
Л.П.Сарапуу, 1965. Физиол. раст. 12, 1.
Л.П.Сарапуу, М.Тоом, 1970. Уч. зан. ТТУ. Тр. по физиол.
и биохимии раст. 1 У.
Л.П.Сарапуу, Э.Хейнару, 1971. Биохим. 36, 1

ОКИСЛЕНИЕ ФЛОРИДЗИНА ПЕРОКСИДАЗОЙ

Ю. К а с ь к
студент V курса

(Руководитель ст. преп. Л. С а р а п у у)

Резюме

Исследовали окисление флоридзина пероксидазой и влияние аскорбата, тирозина, кверцетина, кльорогената и флороглюцина на этот процесс.

Окисление флоридзина пероксидазой сильно подавляется флороглюцином, значительно меньше аскорбатом и кльорогенатом, а тирозин и кверцетин влияние не оказали.

Полученные данные позволяют предполагать, что пероксидаза окисляет А-кольцо (флороглюциновое кольцо) флоридзина с образованием двух неидентифицированных продуктов.

FLORIDSIIINI KONDENSATSIOONIPRODUKTIDE
OMADUSI

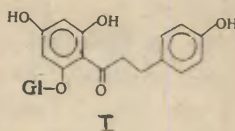
E. O r g

IV kursuse üliõpilane

(Juhendaja van.-öp. L. S a r a p u ü)

Kuni käesoleva ajani on flavonoidide kondensatsiooni selgitatud põhiliselt teetaimede lehtedes, kus katehiinidest teevad mitmesugused värvilised kondensatsiooni produktid (Zapromjotov, 1964). Teiste flavonoidsete ühendite kondensatsiooni kohta andmed kirjanduses aga praegu puuduvad.

Üsna hiljuti selgitati, et ka õunapuus esinev dihidrohaalkoon floridsiin (I) on võimeline kondenseeruma analoogilisteks produktideks. Kondensatsioonile alluvad produktid tekivad floridsiini oksüdeerumisel difenooloksüdaasi toimel. Tekkinud floridsiini kondensatsiooni produkt (FKP) nimetame tekkimise järjekorra järgi x_2 - ja x_3 -FKP



. Käesoleva töö ülesandeks oli selgitada floridsiini kondensatsiooni produktide mõningaid omadusi.

Kui dimeersed kinoonid x_2 -FKP ja x_3 -FKP on sin- ja anti-isomeerid (valem II ja III), st. nad erinevad ainult oma geomeetrilise struktuuri poolest, siis võiks eeldada, et sin-isomeer kui kompaktse struktuuriga ühend omab molselektil väiksema liikumiskiiruse kui enam hargnenud struktuuriga, kuid sama molekulaaluga anti-isomeer. Seoses sellega pakus huvi, kas x_2 -FKP ja x_3 -FKP kinoonide isomerisatsioon on seotud ruumiliste muutustega.

Teiseks uuriti atsetüülimise mõju floridsiini kondensat-

siooniproduktide isomerisatsioonivõimele. Juhul, kui floridsiini kondensatsiooniproduktide dimeeride erinevad vormid määratakse hüdroksüülgruppidega, mis võimaldavad vesiniksidemete tekkimist ning sin- ja antiisomeeride fikseerimist erinevates asendites, siis hüdroksüülgruppide atsetüülimine peaks sellised omadused kaotama.

Metoodika

Molsslekt kujutab endast dekstriinigraanuleid, mille poorid lasevad graanulitesse tungida aineid ainult kuni teatava molekulkaaluni. Sisestunud graanulitesse, liiguvad väiksema molekulkaaluga ained seal aeglasemalt, kuna suurema molekulkaaluga ained tungivad n.ö. vabalt läbi molselekti graanulitevahelisi teid mööda ja väljuvad kolonnist kiiremini. Molselekt suspenseeriti destilleeritud vees ja lasti tal paisuda. Suspensioon vabastati peenhärgust, mis jäi puhetuva geeli kohale vedelikku (see valati 2-3 korda pealt ära ja asendati uue vee portsjoniga). Sel viisil töödeldud molselektiga täideti klaaskolonn. Molselekti peal oleval veel lasti langeda kuni geeli pinnani ning seejärel viidi ettevaatlikult, vältides kolonni külgsainte puudutamist, kolonni 3 tilka eelnevalt kromatogrammilt elueeritud x_2 -FKP ja hiljem x_3 -FKP ekstrakti. Jälgiti nende liikumiskiirusi molselektil. Liikumiskiiruse (V) all mõistetakse antud juhul 1 ml tsiooni laadimise vee mõjul aine poolt läbitud tee pikkust cm-tes.

Floridsiini oksüdatsiooniproduktide atsetüülimiseks koostati inkubatsioonisegu (floridsiin; fosfaatpuhver pH=6,6 o-difenoooksüdaas), mis pärast 24-tunnist inkubeerimist kromatografeeriti. Kromatogramm voolutati polaarses voolutis (n-butanooläädikhape-vesi vahekorras 3:2:95) ning seejärel eraldati kinnoided x_2 - ja x_3 -FKP. Viimased puhasta-

mise eesmärgil rekromatografeeriti ning voolutati apolaarses voolutis (n-butanool-äädikhape-vesi vahekorras 100:19:35). Kromatogrammilt elueeriti nimetatud ühendid meta-nooliga, mis seejärel aurustati. Atsetüülitavale ainele lisati 2 tilka püridiini, 1 ml äädikhappeanhüdriidi ning mõned tilgad konts. H_2SO_4 . Saadud ekstraktil lasti seista 20 min. ning seejärel lisati vett. Atsetüülimist korrati ka teist korda. Kuna reaktsioonil tekib rohkesti osaliselt atsetüülunudprodukte, viidi atsetüülimisprodukt puhastamise eesmärgil üle etüülatsetaati, millega ekstraheeriti seda kolm korda.

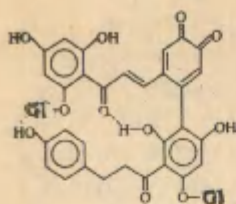
Etüülatsetaati aurustati, jääk lahustati etanoolis ning kromatografeeriti. Kromatogramm voolutati apolaarses voolutis.

Katsetulemused ja arutelu

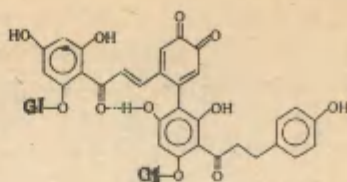
Kinoidsele x_2 -FKP ja x_3 -FKP liikumiskiirused olid vastavalt sin-isomeeri puhul 1,12 V ja anti-isomeeri puhul 1,37 V.

Seega antud uurimuse abil selgus, et x_2 -FKP ja x_3 -FKP kinoonide isomerisatsioon võib olla seotud ruumiliste muutustega.

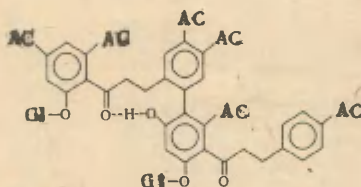
Floridsiini kondensatsiooniproductide atsetüülimisel selgus, et mainitud productid omavad ainult ühe värvitu, vees lahustamatu ja keemiliselt stabiilse reaktsiooniproducti (valem IV). Taolise producti tekkimist võib x_2 -FKP ja x_3 -FKP kinoonide näite varal selgitada järgmiselt:



II x_2 -FKP kinoon
(sin-isomeer)



III x_3 -FKP
(anti-isomeer)



IV FKP kinoonide atsetüülimise ühine produkt
(AC - atsetüüljääk)

Toodud skeemilt selgub, et pärast atsetüülimist pole võimalik enam kinoonse vormi, vesiniksidemete ja järelilikult ka sin-isomeeri moodustumine.

Atsetüülimisreaktsioon näitas esitatud kondensatsiooniproduktide (II, III ja IV) esinemise reaalsust.

Kirjandus

- М.Н.Запромётон, 1964. Биохимия катехинов. 14, изд.-во "Мир"
Л.П.Сарапуу, 1971. Окисление флоридзина о-дифенолоксидазой.
Биохимия, 38, 7

О СВОЙСТВАХ ПРОДУКТОВ КОНДЕНСАЦИИ ФЛОРИДИНА

Э. О р г

студент IV курса

(Руководитель ст. преп. Д.С а р а п у у)

Резюме

Пространственную структуру продуктов конденсации флоридина (ПФ) изучали с помощью фильтрации через молселекта и реакции ацетилирования. Хотя молекулярные веса χ_2 -и χ_8 -ПФ одинаковые они имеют разную подвижность и следовательно, могут являться син- и анти-изомерами. В результате ацетилирования все ПФ дают только один стабильный продукт реакции что свидетельствует о важной роли водородных связи при фиксировании син-изомера.

MINERAALTOITUMISE MÕJUST C_6-C_1 -FENOOLKARBOKSÜÜL-
HAPETE SISALDUSSE ÖUNAPUUS

L. P e r e

V kursuse üliõpilane

(Juhendaja dots. H. M i i d l a)

Viimasel ajal uuritud fenoolsetest ühenditest käsitleb üks osa töid C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhappeid. C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapeteks nimetatakse happeid, mille koostisse kuulub aroomaatne tuum (C_6 -ühik) karboksüülrühmaga (C_1 -ühik) külghelases. Enamtuntud C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapeteks on p-hüdroksübensoe-, protokatehhu-, gallus-, vanilliin-, sirel-, salitsüül-, o-pürokatehhu- ja gentisiinhape. Üksteisest erinevad nad hüdroksüül- ja metoksürühmade arvu ning asetuse poolest. Kuigi fenoolkarboksüülhappeid on määratud ka seentest, samblikest ja sõnajalgadest, on nende esinemine iseloomulik eelkõige kõrgematele taimedele, kusjuures neid leidub kõigis taimeorganeis. Nii näiteks on identifitseeritud Primula veris'e lehtedest 7 fenoolkarboksüülhapet (Ibrahim, Towers, 1960), Leutzia wilsonii lehtedest p-hüdroksübensoe-, vanilliin- ja gentisiinhape (Tomaszewska, 1964). Maisi vartest on eraldatud p-hüdroksübensoe-, vanilliin- ja sirelhape (Molot, Sechet, 1967), Salix viminalis'e puitunud võrsetest aga peale eelpoolnimetatute veel protokatehhuhape (Vázquez jt., 1968). Nisujuurtest on määratud viis C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapet (El - Basyouni, Towers, 1964). Fenoolkarboksüülhapete esinemist on täheldatud ka tolmukates, seemnetes ja viljades.

C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapete universaalne levik lubab oletada nende tähtsat osa taimede füsioloogilistes ja bio-

keemilistes protsessides. Nii näiteks on p-hüdroksübensoehape plasto-, ubi- ja naftokinoonide eellaseks (Wistance, jt., 1966; Bohm, 1967). Viimased võtavad osa niisugustest põhilistest protsessidest nagu seda on hingamine ja fotosüntees taimedel. Rida autoreid (Feldman, Hanks, 1965; Fawcett, Spencer, 1967) on näidanud fenoolkarboksüülhapete fungitsiitset mõju. p-Hüdroksübensoe-, vanilliin- ja sirelhape esinevad ligniinis estritena (Smith, 1955). On näidatud ka fenoolkarboksüülhapete stimuleerivat või inhibeerivat mõju taimede kasvule, mis sõltub nende hapete keemilisest ehitusest ja kontsentratsioonist. Protsessi toimemehhanism seisneb kaasaegsete kujutluste kohaselt indolül-äädikhappe-oksüdaasi aktiveerimises või inhibeerimises (Zenk, Müller, 1963; Pilet, 1966). Enamik eelpoolmainitud autoreist on tuvastanud fenoolkarboksüülhapped kvalitatiivselt. Käesolevas töös on nimetatud ühendid määratud erineva mineraalse toitumisega kolmeaastaste õunapuustikutute (sort "Antoonovka") lehtedest ja juurte puidust kvantitatiivselt. Analüüsidel kasutati põhiliselt paberchromatograafiat ja spektrofotomeetriat.

Metoodika

Analüüsiks võeti 1-2 g peenendatud absoluutkuiva materjali ja ekstraheeriti 85-protsendilise etanooliga vahekorras 1 : 20 keeval vesivannil 4 korda ä 15 minutit. Saadud etanooliekstraktid filtreeriti ja valati kokku ning lisati 5-10 ml destilleeritud vett. Etanooli vesilahus tihendati vaakumdestillatsioonil ja sadenenud pigmentide eraldamiseks lahus filtreeriti. Järelejäänud vesiekstraktile lisati 20 ml 2 N HCl ja hüdrolüüsiti keeval vesivannil 1 tund flavonoidglükosiidide lagundamiseks. Happelisest vesilahusest ekstraheeriti fenoolkarboksüülhapped etüülatsetaadiga vahekorras 1 : 1 magnetsegajal 3 korda ä 15 minutit. Etüülatsetaadi kihid eraldati jaotuslehttris, ühendati ja lasti tõmbe-

kapi all kuivaks auruda. Jääk lahustati 96-protsendilises etanoolis ja kromatografeeriti. Saadi vabad C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapped. Seotud C_6-C_1 -hapete saamiseks hüdrolüüsi-ti eelnevalt 85-protsendilise etanooliga ekstraheeritud materjali 2 N HCl-ga 1 tund keeval vesivannil. Seejärel filtreeriti ja ekstraheeriti etüülatsetaadiga. "dasi toi-miti nagu vabade ühendite puhul. C_6-C_1 -fenoolkarboksüülha-pete lahutamiseks kasutati kahesuunalist paberkromatograa-fiat: 1. n-butanool küllastatud 3-protsendilise NH_4OH -ga 2. n-butanool küllastatud 0,1 M kaaliumbiftalaadiga. Kroma-togrammild ilmutati diasoteeritud p-nitroanilliiniga. p-Hüd-roksübensoehape ilmus roosana ($R_f = 0,91$), vanilliinhape lillana ($R_f = 0,77$) ja sirelhape sinisena ($R_f = 0,64$). Vas-tavad laigud elueeriti 49-protsendilise etanooliga ja mää-rati nende ekstinktsioon spektrofotomeetriliselt. Kontsent-ratsioonid $\mu g/g$ kuivkaalu kohta arvutati valemi $c = \frac{E \cdot M \cdot d}{\epsilon \cdot l}$ põhjal, kus

E - ekstinktsioon kasutatud laine pikkusel

M - uuritava aine molekulmass

d - proovi lahjendus

l - lahuse kihi paksus

ϵ - ekstinktsioonikoefitsient

Tulemused

Öunapuulehtedest määrati p-Hüdroksübensoe- ja vanilliin-happe, öunapuujuurte puidust vanilliin- ja sirelhappe kvan-titatiivne sisaldus.

Nagu nähtub katseandmetest (tabel 1 ja 2) avaldab mine-raalne toitumine mõju C_6-C_1 -fenoolkarboksüülhapete kvantita-tiivsele sisaldusele. Nii on kõigi uuritud hapete sisaldus madal lämmastikuta (PK + PK) katsevariantis, fenoolkarboksüül-hapete kontsentratsiooni maksimumi esineb kahekordse läm-mastikudoosi korral (NPK + NPK). Fenoolkarboksüülhapete dünaa-mika on analoogiline samadest katsetaimedest määratud val-gulise ja üldlämmastiku dünaamikaga (Valgepea, 1969). Järe-

likult soodustab lämmastiktoitumine nii kasvu kui ka C₆-C₁-fenoolkarboksüülhapete sünteesi. Võimalik, et viimased võtavad osa kasvuregulatsioonist.

Tabel 1

Vabade C₆-C₁-fenoolkarboksüülhapete sisaldus (μg/g) õunapuusort "Antoonovka" lehtedes (1965.-66.a. keskmine).

Katsevariant	p-Hüdroksübensoehape	Vanilliinhape	Sirelhape
Väetamata	44	35	++
PK + PK	33	27	+
NPK + PK	59	40	++
NPK	73	45	++
NPK + NPK	87	49	+++
NPK(Ca) + NPK(Ca)	82	44	+

Tabel 2

C₆-C₁-fenoolkarboksüülhapete sisaldus (μg/g) õunapuusort "Antoonovka" juurte puidus (1965.-66.a. keskmine)

Katsevariant	Vabad			Seotud		
	p-Hüdroksübensoehape	Vanilliinhape	Sirelhape	p-Hüdroksübensoehape	Vanilliinhape	Sirelhape
Väetamata	++	17	39	+	25	52
PK + PK	+	15	33	+	19	50
NPK + PK	++	18	39	+	26	55
NPK	++	22	46	+	30	63
NPK + NPK	++	24	54	++	36	67
NPK(Ca) + NPK(Ca)	+	20	49	+	30	49

Lehtpuude ligniinis on ülekaalus kahe metoksurühmaga aromaatsed tuumad. Katseandmetest selgub, et ka õunapuujuurte puitu iseloomustab suurem sirelhappe (kaks metoksurühma) sisaldus võrreldes teiste uuritud fenoolkarboksüülhapetega. Samal ajal esineb lehtedes kui puitumata organites sirelhappe jälgedena. Suurim oli lehtedes p-hüdroksübensoehappe sisaldus, mida võib seletada tema osatähtsusega plastokinoidide (osalevad fotosünteesis kloroplastides) biosünteesil.

Seega on C_6-C_1 - fenoolkarboksüülhapetel õunapuus polüfunktsionaalne tähtsus.

K i r j a n d u s

- B.A.Bohm, 1967. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 26, 5, 621.
- S.Z.El-Basyouni, G.H.N.Towers, 1964. Canad. J. Biochem., 42, 2, 203.
- C.H.Fawcett, D.M.Spencer, 1967. Ann. Appl. Biol., 60, 1, 87.
- A.W.Feldman, R.W.Hanks, 1965. Nature, 207, 5000, 985.
- R.K.Ibrahim, G.H.N.Towers, 1960. Arch. of Biochem. and Biophys., 87, 125.
- P.Molot, J.Sechet, 1967. Botaniste, 5, 1-6, 309.
- P.E.Pilet, 1966. Phytochemistry, 5, 1, 77.
- D.C.C.Smith, 1955. Nature, 4489, 927.
- M.H.Zenk, G.Müller, 1963. Nature, 200, 4908, 761.
- E.Tomaszewska, 1964. Bull. Acad. sci. Sér. sci. biol., 12, 12, 540.
- E.Valgepea, 1969. Diplomitöö, käsikiri.
- A.Vázquez, J.Mendez, M.D.V.Gesto, E.Seoane, E.Vieitez, 1968. Phytochemistry, 7, 2, 161.
- R.Whistance, D.R.Threlfall, T.W.Goodwin, 1966. Biochem. Res. Commun., 23, 6, 849.

О ВЛИЯНИИ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ
 C_6-C_1 -ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ЯБЛОНЕ

Л. П е р е

студент V курса

(Руководитель доц. Х. М и й д л а)

Резюме

С помощью бумажной хроматографии и спектрофотометрии исследовали влияние минерального питания на количественное содержание C_6-C_1 -фенолкарбоновых кислот (п-гидроксibenзойной, ванилиновой и сирeneвой) в листьях и древесине корней яблони. Полученные результаты показывают, что азотное удобрение благоприятствует, а фосфоркалийное удобрение тормозит накопление C_6-C_1 -кислот. В листьях содержание п-гидроксibenзойной кислоты, превращает содержание ванилиновой кислоты. Для древесины корней характерно высокое содержание сирeneвой кислоты, по сравнению с содержанием ванилиновой и п-гидроксibenзойной кислотами.

Так как указанные кислоты могут участвовать как в процессе роста, так и лигнификации, то можно предположить, что им свойственна полифункциональность.

Sisukord

	Lk.
L.Plado. Mõnede biotiliste faktorite osatähtsusest vegetatsioonikatsete lämmastikubilansis...	3
A.Laving. <u>Ööhapniku</u> mõjust <i>Achromobacter agile</i> nitraadi reduktaassüsteemile	13
H.Tiivel. Puukoolide mullaväeimusest	21
M.Varjun. Atsetaadi omastamine <i>Achromobacter agile</i> kasvavate kultuuride ja rakususpensioonide poolt	30
T.Kurissoo. Mono- ja oligosahhariidide omastamine pärmseente tööstuslike rasside poolt....	35
M.Zilmer. Ajukoest Na^+ , K^+ -ATP-aasi puhastamine tihedus gradiendis tsentrifuugimisel	43
J.Kask. Floridsiini oksüdeerimine peroksüdaasi toimel	48
E.Org. Floridsiini kondensatsiooniproduktide omadusi	53
L.Pere. Mineraaltoitumise mõjust $\text{C}_6\text{-C}_1$ -fenoolkarboksüülhapete sisaldusse õunapuus	58

Содержание

Л.Пладо. О роли некоторых биотических факторов в азотном балансе почв вегетационных опытов. Резюме	12
А.Лавинг. О влиянии кислорода воздуха на нитрат-редуктазные системы <i>Achromobacter agile</i> ..	20
Х.Тиивель. О почвусутомлении в питомниках	29
М.Варьун. Усвоение атсетата растущими культурами суспензиями клеток <i>Achromobacter agile</i> ...	84
Т.Куриссоо. Усвоение моно- и олигосахаридов произв-	

водственными штаммами дрожжей	42
М.Цильмер. Об очистке Na^+ , K^+ -АТФ-азы мозга при помощи метода центрифугирования в градиенте плотности	47
Ю.Наськ. Окисление флоридзина пероксидазой	52
Э.Орг. О свойствах продуктов конденсаций флоридзина. 57	
Л.Пере. О влиянии минерального питания на содержание C_6C_1 -Фенолкарбоновых кислот в яблоне	63

МАТЕРИАЛЫ XXVI КОНФЕРЕНЦИИ СНО
ДОКЛАДЫ ПО МИКРОБИОЛОГИИ И
ФИЗИОЛОГИИ

На эстонском и русском языках

Тартуский государственный университет
ЭССР, г.Тарту, ул. Пикколи, 18

Vastutav toimetaja J. Simisker
TRÜ rotaprint 1971. Paljundamisele antud
31. III 1971. Trükipoognaid 4, 13. Tingtrü-
kipoognaid 3, 83. Arvestuspoognaid 2, 9. Trü-
kiarv 250. Paber 30 x 42. 1/4. MB 03540.

Tell. nr. 250

Hind 20 kop.

Kind 20 kop.